บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 อุปกรณ์

1. วัตถุดิบและสารเคมีในการผลิตน้ำมัน

- ดักแด้ไหมอีรี่ที่เลี้ยงด้วยใบมันสำปะหลัง และใบละหุ่ง จากคณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน แช่งเยือกแข็งที่ -20 องศาเซลเซียส ขนส่งทางรถยนต์โดยแช่น้ำแข็ง
- ปิโตรเลียมอีเทอร์ (Petroleum ether) จุดเดือด 40-60 องศาเซลเซียส (Merck, Germany)
- เฮกเซน (Hexane) (Merck, Germany)
- โซเดียมโฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) (Ajax finechem)
- ถ่านฟอกสี (Activated Charcoal) (OV chemical, Thailand)

2. อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการผลิตน้ำมัน

- ตู้อบลมร้อนไฟฟ้า (Heng wei: N 305)
- เครื่องบดอาหาร (National : Quick mini blender)
- เครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator) (BUCHI รุ่น R-2)
- เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius: CP224S, Germany)
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (GFL, Germany)
- เครื่องเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง (Centrifuge: Hettich; Model ROTINA 46 R)
- ขวดสีชา
- เทอร์โมมิเตอร์ (OAKTON, china)
- กระดาษกรอง (Whatman No.1)

3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์

- Hot air oven (Mennert: ULM 500, Germany)
- เครื่องวัดสี (Minolta, Model CR300: Japan)
- เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius: CP224S, Germany)
- กระดาษกรอง (Whatman No.1)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- ขวดหาค่าความถ่วงจำเพาะ (Pycnometer)
- เทอร์โมมิเตอร์ (OAKTON, china)
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (GFL, Germany)
- ชุดกลั่นรีฟลักซ์
- กรวยแยก (separating funnel)
- pH meter

3.2 วิธีการทดลอง

การวิจัยแบ่งออกเป็น 4 ตอนดังนี้

ตอนที่ 1 ศึกษาชนิดของดักแด้ไหมอีรี่และตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดน้ำมันดิบจากดักแด้ไหมอีรี่

ทำการเปรียบเทียบการสกัดน้ำมันจากดักแด้ไหมอีรี่ 2 ชนิด คือที่เลี้ยงด้วยใบมันสำปะหลัง และที่เลี้ยงด้วยใบละหุ่ง โดยใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิดคือ ปิโตเลียมอีเทอร์ และเฮกเซน วิธีการสกัดน้ำมันโดยดัดแปลงวิธี Folch method (อมรัตน์,2550) โดยนำดักแด้ไหมอีรี่ ทำความสะอาดแล้วนำไปอบแห้งที่ 80 องศาเซลเซียส เวลาประมาณ 10 - 12 ชั่วโมง ทำการบดดักแด้ด้วยเครื่องบดให้มีความละเอียด กรองผ่านตะแกรง 30 mesh นำตัวอย่าง 20 กรัม ใส่ในขวดชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมตัวทำละลายลงไปจำนวน 150 มิลลิลิตร จากนั้นเขย่าแรงๆ ประมาณ 20 ครั้ง ตั้งทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง แล้วนำไปอุ่นใน water bath ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที เขย่าเป็นครั้งคราว กรองสารที่สกัดได้ผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 นำสารละลายที่ได้ไประเหยเอาตัวทำละลายออกจนหมดด้วยเครื่อง Rotary Evaporator จนได้น้ำมันที่เหลือ ทำการบันทึกน้ำหนักน้ำมันที่ได้ และคำนวณร้อยละของน้ำมันที่ได้ต่อน้ำหนักแห้งของดักแด้ทั้งสองชนิด (% crude fat) ดังสูตร และเก็บน้ำมันที่ได้ไว้ที่ – 20 องศาเซลเซียส

$$\% \text{ crude fat} = \frac{\text{น้ำหนักของไขมันที่สกัดได้ (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักของตัวอย่างอาหารแห้งที่ใช้ (กรัม)}}$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วางแผนการทดลองแบบ Factorial design in CRD ขนาด 2x2 ทดลอง 3 ซ้ำ โดยปัจจัยที่แปร คือชนิดของดักแด้ไหมอีรี่ 2 ชนิด คือที่เลี้ยงด้วยใบมันสำปะหลัง และที่เลี้ยงด้วยใบละหุ่ง และชนิดของตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ ปิโตเลียมอีเทอร์และเฮกเซน วิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Dancan's New Multiple Rang Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตอนที่ 2 หาระดับปัจจัยที่เหมาะสมของในการสกัดน้ำมันดิบจากดักแด้ไหมอีรี่

เนื่องจากในการสกัดน้ำมันด้วยตัวทำละลายมีปัจจัยที่คาดว่าน่าจะมีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพการสกัดที่น่าสนใจหลายประการเช่น ขนาดของวัตถุดิบ ปริมาณวัตถุดิบที่ใช้ต่อปริมาณตัวทำละลาย ชนิดตัวทำละลาย อุณหภูมิ และระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด เป็นต้น การที่มีปัจจัยมาเกี่ยวข้องหลายประการทำให้มีการปรับปรุงคุณภาพการสกัดทำได้ยากเนื่องจากไม่ทราบว่าชัดเจนว่าปัจจัยใดมีอิทธิพลมากน้อยต่างกันอย่างไร หรือปัจจัยที่ใช้ร่วมกันอิทธิพลต่อกันอย่างไรบ้าง ดังนั้นจึงพิจารณาปัจจัยบางตัวที่เกี่ยวข้องให้เป็นปัจจัยที่คงที่ โดยมีชนิดตัวทำละลาย และชนิดของดักแด้ที่ได้ทำการทดลองมาแล้วในตอนที่ 1 เป็นปัจจัยคงที่ ส่วนปริมาณวัตถุดิบที่ใช้นั้นได้กำหนดให้คงที่เพื่อให้เมื่อปรับปริมาณตัวทำละลายที่ใช้หลายๆ ระดับแล้วจะได้ค่าสัดส่วนของตัวทำละลายต่อวัตถุดิบที่ใช้แตกต่างกันอยู่แล้ว หากปรับทั้งสองค่าไปพร้อมๆ กันอาจทำให้ได้ค่าสัดส่วนของตัวทำละลายต่อวัตถุดิบคงที่ได้ ดังนี้จึงเหลือปัจจัยที่คาดว่าจะมีอิทธิผลต่อการสกัดน้ำมัน 3 ปัจจัยคือปริมาณของตัวทำละลาย เวลาที่ใช้สกัด และอุณหภูมิในการสกัด ทำการวางแผนการทดลองแบบ Central Composite Design (CCD) ทำการศึกษาปัจจัยละ 5 ระดับ ($-\alpha$, -1, 0, 1, α) ได้แก่ ปัจจัยที่ 1 ปริมาณตัวทำละลาย 66, 100, 150, 200, 234 มิลลิลิตร ปัจจัยที่ 2 อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด 33.2, 40, 50, 60, 67 องศาเซลเซียส ปัจจัยที่ 3 เวลาในการสกัด 7, 10, 15, 20, 23.5 นาที โดยใช้ชนิดของดักแด้ และชนิดของตัวทำลายจากการทดลองที่ 1 จะได้สิ่งทดลองทั้งหมด 17 สิ่งทดลอง (ดังตารางที่ 2) ทำการวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยวิธีการ Response Surface Methodology (RSM) เพื่อหาปริมาณของ % crude fat ที่ได้จากการสกัด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 3.1 แผนผังการทดลองในการหาระดับปัจจัยที่เหมาะสมของในการสกัดน้ำมันดิบจากดักแด้ไหมอีรี่

สิ่งทดลอง	ค่ารหัสของปัจจัย			ค่าจริงของปัจจัย		
	ปริมาณตัวทำละลาย	อุณหภูมิ	เวลา	ปริมาณตัวทำละลาย	อุณหภูมิ	เวลา
1	-1	-1	-1	100	40	10
2	-1	-1	+1	100	40	20
3	-1	+1	-1	100	60	10
4	-1	+1	+1	100	60	20
5	+1	-1	-1	200	40	10
6	+1	-1	+1	200	40	20
7	+1	+1	-1	200	60	10
8	+1	+1	+1	200	60	20
9	$-\alpha$	0	0	66	50	15
10	$+\alpha$	0	0	234	50	15
11	0	$-\alpha$	0	150	33.2	15
12	0	$+\alpha$	0	150	67	15
13	0	0	$-\alpha$	150	50	7
14	0	0	$+\alpha$	150	50	23.5
15	0	0	0	150	50	15
16	0	0	0	150	50	15
17	0	0	0	150	50	15

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตอนที่ 3 ศึกษาสมบัติของน้ำมันจากดักแด้ไหมอีรี่บริสุทธิ์ที่สกัดได้

นำดักแด้ไหมอีรี่ที่ได้เลือกจากตอนที่ 1 ทำการอบแห้งและบดให้และเอียดแล้วนำไปสกัดน้ำมันโดยใช้ระดับปัจจัยที่ได้จากการทดลองในตอนที่ 2 นำน้ำมันที่ได้ผ่านกรรมวิธีการทำให้น้ำมันบริสุทธิ์ ดังนี้

3.1 การกำจัดกรด เป็นการกำจัดกรดไขมันอิสระออกจากน้ำมันดิบ โดยการเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์โดยให้ทำปฏิกิริยากับกรด ทำได้ดังนี้คือ

3.1.1 ปรับอุณหภูมิน้ำมันในอยู่ในช่วง 26±1 องศาเซลเซียส แล้วเติมสารละลายด่างโดยใช้ในอัตราส่วนน้ำมันต่อด่าง เป็น 100 กรัมต่อ 20 มิลลิลิตร โดยทำการคำนวณความเข้มข้นที่ใช้จากสูตรดังนี้ (Mowlah et al. 1990)

$$Q = \frac{Q_1 \times P \times A \times 1000}{1000 \times M \times N}$$

โดย Q = ปริมาณสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ (ลิตร)

Q_1 = ปริมาณน้ำมันที่ใช้ในกระบวนการ(ลิตร)

P = ค่าความถ่วงจำเพาะของน้ำมัน

A = ค่าความเป็นกรดของน้ำมัน (เปอร์เซ็นต์)

M = น้ำหนักโมเลกุลของกรดไขมัน (โดยส่วนใหญ่ใช้น้ำหนักโมเลกุลของกรดไขมันชนิด oleic acid = 282)

N = ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้

3.1.2 กวนอย่างรวดเร็วจนเกิดสบู่ โดยใช้เวลา 10 นาที

3.1.3 ให้ความร้อนหลังการเกิดสบู่จนได้อุณหภูมิ 54- 60 องศาเซลเซียส

3.1.4 ถ่ายน้ำมันและสบู่ลงกรวยแยก และตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนแยกชั้น

3.1.5 เปิดวาล์วเอาสบู่ออก

3.1.6 จากล้างสบู่ และด่างที่ตกค้างออกจากน้ำมันด้วยน้ำร้อนซ้ำหลายๆ ครั้ง โดยใช้น้ำร้อนร้อยละ 10 ของน้ำมัน จนน้ำมันเป็นกลาง

3.1.7 หมุนเหวี่ยงแยกน้ำมันและสบู่ที่เหลือออกด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ 3,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที

3.2 การฟอกสี เพื่อใช้แยกสารประกอบพวกรงควัตถุต่างๆ ทำได้ดังนี้คือ

3.1.1 ปรับอุณหภูมิของน้ำมันให้อยู่ในช่วง 80±1 องศาเซลเซียส

3.1.2 เติมถ่านฟอกสีโดยใช้ Activated charcoal ร้อยละ 0.5 ของน้ำมัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.1.3 ผสมกันเป็นเวลา 30 นาที โดยเพิ่มความร้อนจนมีอุณหภูมิ สูงขึ้นถึง 105 องศาเซลเซียส

3.1.4 กรองแยกสารฟอกสีออกอย่างรวดเร็วโดยไม่ต้องรอให้เย็น

หลังสกัดและทำให้บริสุทธิ์แล้ววิเคราะห์คุณสมบัติน้ำมันที่ได้ และเปรียบเทียบกับค่าดัชนีที่เป็นมาตรฐานน้ำมันบริโภค น้ำมันสกัดจากไหมหม่อน ดังนี้

คุณภาพทางกายภาพ

- ความหนาแน่นหรือความถ่วงจำเพาะ (AOAC, 2005)
- การหักเหของแสง (AOAC, 2005)
- สี (L, a*, b*) (Minolta : Model CR300)

คุณภาพทางเคมี

- pH (pH meter)
- ค่าไอโอดีน (I.N.) (AOAC, 2005)
- Saponification Number (S.N.) (AOAC, 2005)
- Unsaponifiable matters (AOAC, 2005)
- Acid Value (A.V.) (AOAC, 2005)
- ค่าเปอร์ออกไซด์(Peroxide Value, P.V.) (AOAC, 2005)
- น้ำและสารระเหยได้ที่ 105 องศาเซลเซียส (AOAC, 2005)
- สารที่ไม่ละลายในน้ำมัน (AOAC, 2005)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

รูปที่ 3.1 แผนผังกระบวนการทำให้น้ำมันบริสุทธิ์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตอนที่ 4 ศึกษาความคงตัวของน้ำมันที่สกัดได้และผ่านการทำให้บริสุทธิ์

โดยน้ำมันที่มีอยู่ตามธรรมชาติจะมีสารป้องกันการหืน (Antioxidants) อยู่แล้ว เพื่อเป็นการทดสอบความคงตัวของน้ำมันที่สกัดได้โดยไม่มีการเติมสารกันหืนลงไป โดยทำการเก็บรักษาน้ำมันในขวดแก้วชาขวดละ 10 กรัม ปิดจุกพลาสติกและปิดฝาให้สนิท ทำการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 องศาเซลเซียส) และที่อุณหภูมิ 5 ± 1 องศาเซลเซียส ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างทุกๆ 3 วัน เป็นเวลา 15 วัน โดยทำการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของน้ำมันที่ได้ ดังนี้

คุณภาพทางเคมี

- Acid Value (A.V.) (AOAC, 2005)
- ค่าเปอร์ออกไซด์(Peroxide Value, P.V.) (AOAC, 2005)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved