บทที่ 4

อุปกรณ์และวิธีการดำเนินการวิจัย

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการทดลองสกัดสารบาราคอลขั้นต้นออกจากใบขี้เหล็ก และทำให้เข้มข้นขึ้นด้วยกระบวนการเพอร์เวเพอเรชัน (Pervaporation) การทดลองนี้ได้แบ่งออกเป็น สองส่วนใหญ่คือ ขั้นตอนแรกเป็นการสกัดสารบาราคอลออกจากใบขี้เหล็กโดยใช้ตัวทำละลายเอธานอล 15 เปอร์เซนต์โดยปริมาตร ตัวแปรที่ต้องการศึกษาคือ ขนาดผงใบขี้เหล็กแห้ง ปริมาณใบขี้เหล็กต่อตัวทำละลาย และระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารบาราคอล ขั้นตอนที่สองคือ การทำให้สารละลายบาราคอลที่สกัดได้เข้มข้นขึ้นด้วยกระบวนการเพอร์เวเพอเรชัน ตัวแปรที่ต้องการศึกษาคือ อุณหภูมิ และความดันในการปฏิบัติการ

4.1) เคมีภัณฑ์

1.) ใบขี้เหล็กแห้งขนาดต่าง ๆ กัน

2.) เอธานอล (Ethanol ของ CARLO EABA REAGENT, RPE)

3.) สายยางซิลิโคนชื่อการค้า VERSILIC ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร ความหนา 0.25 มิลลิเมตร

4.) น้ำกลั่น (Distillation water)

5.) น้ำแข็งแห้ง (Dry Ice)

4.2) เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

1.) ขวดแก้วรูปชมพู่ (Flask) ขนาดต่างๆ กัน

2.) หลอดทดลองพร้อมฝาปิด

3.) ปั๊มป้อนสารแบบรีด (Peristalic pump: Masterflex model 7518-10, Barnant Company)

4.) โมดุลของเยื่อแผ่น (Membrane module) ประกอบด้วยสายยางซิลิโคนบรรจุอยู่ในท่อแก้วที่มีท่อดูดอากาศ (Vacuum) สายยางซิลิโคนต่ออยู่กับสายป้อนด้านล่าง และไหลออกทางด้านบน (Silicone Rubber Tubing : Silex Co.Ltd., U.K.) มีพื้นที่ถ่ายเทมวลสารเท่ากับ 0.0527 ตารางเมตร

5.) ปั๊มสูญญากาศแบบโรตารี (Rotary Vacuum Pump : E2M1.5, 220-240V, 50-60Hz, Edwards, U.K.)

6.) เกจวัดความดันสูญญากาศ (Pirani Vacuum Gauge : PRH10K, Edwards, U.K.)

7.) ชุดวัดค่าความดัน (Vacuum Measurement : Pirani 501 Pre-set to 200-240V, Edwards, U.K.)

8.) ชุดควบแน่นจำนวน 2 ชุดต่อขนานกัน ใช้น้ำแข็งแห้ง (-79 ^{o}C) เป็นตัวทำให้เพอร์มิเอทควบแน่น (Condenser Unit)

9.) เทอร์โมคัปเปิล (Thermocouple : Pt100 type MT201, Hanyoung Co.Ltd., Korea)

10.) ชุดแสดงผลค่าอุณหภูมิ (Temperature Indicator : Type Hy850S, Hanyoung Co.Ltd., Korea)

11.) ชุดอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิได้ (Constant Temperature Water Bath)

4.3) การเตรียมใบขี้เหล็ก

นำใบขี้เหล็กสดมาทำความสะอาดโดยการล้างด้วยน้ำ หลังจากนั้นนำใบขี้เหล็กสดมาตากแดดให้แห้งเป็นเวลา 3 วัน แล้วนำใบขี้เหล็กแห้งมารูดกิ่งใบขี้เหล็กออก เหลือเฉพาะใบขี้เหล็กแห้ง ต่อจากนั้นนำมาบดให้เป็นผงละเอียด โดยใช้เครื่องใบพัดตีป่น ในขั้นตอนการทดลองหาขนาดผงใบขี้เหล็กที่เหมาะสมต่อการสกัดสารบาราคอล จะนำผงใบขี้เหล็กมาผ่านชุดตะแกรงร่อนจนได้ขนาดตามที่ต้องการนั้น จึงค่อยนำมาทำการสกัดสารบาราคอล โดยใช้วิธีเขย่าและในถังกวนต่อไป ใบขี้เหล็กและผงใบขี้เหล็กแห้ง ได้แสดงในรูปที่ 4.1

รูปที่ 4.1 แสดงใบขี้เหล็กสดและผงใบขี้เหล็กแห้ง

4.4) การทดลองหาขนาดของใบขี้เหล็กที่เหมาะสมในการสกัด

นำใบขี้เหล็กที่บดแห้งมาผ่านเครื่องร่อนขนาด (Sieve analysis) ซึ่งชั้นตะแกรงที่ใช้ในการแยกขนาดผงขี้เหล็กต่างๆ กันมีดังต่อไปนี้

ตารางที่ 4.1 แสดงขนาดของช่องรูตะแกรงในการแยกขนาดผงใบขี้เหล็ก

Mesh Number	Size (μm)
14	1400
18	1000
25	710
35	500
45	355
60	250
80	180

หลังจากทำการเขย่าผ่านตะแกรงร่อนแล้ว นำผงใบขี้เหล็กแห้งแต่ละขนาดมาทำการสกัดเพื่อหาปริมาณสารบาราคอล ด้วยการทดลองโดยเครื่องเขย่า (Shaker) ที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และทำการทดลองโดยการใช้อัตราส่วนผงใบขี้เหล็ก 2 และ 10 กรัมต่อตัวทำละลายเอธานอล 15 % โดยปริมาตร ปริมาณ 100 มิลลิลิตร

4.5) การทดลองหาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการสกัดสารบาราคอลขั้นต้น

ทำการทดลองโดยใช้เอธานอล 15 % โดยปริมาตร เป็นตัวทำละลาย เตรียมผงใบขี้เหล็กแห้งปริมาณ 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14,16, 18, และ 20 กรัม นำผงใบขี้เหล็กมาใส่ลงในขวดรูปชมพู่

ขนาด 250 มิลลิลิตรแล้วเติมเอธานอล 15 % โดยปริมาตรปริมาณ 100 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ ต่อจากนั้นทำการเขย่าด้วยเครื่องเขย่า (Shaker) ที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการกรองสารละลาย เพื่อแยกเอาใบขี้เหล็กออกเราจะได้สารละลายที่มีสารบาราคอล นำสารละลายที่ได้จากการสกัดไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC (High Performance Liquid Chromatography) เพื่อหาปริมาณสารบาราคอลในสารสกัดใบขี้เหล็ก

4.6) การทดลองหาเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารบาราคอลขั้นต้น

ทำการทดลองหาเวลาในการสกัดสารจากใบขี้เหล็กที่บดเป็นผง โดยใช้อัตราส่วนผงใบขี้เหล็ก 2, และ 10,กรัมต่อตัวทำละลายเอธานอล 15 %โดยปริมาตร ปริมาณ 100 มิลลิลิตร โดยทำการเขย่าด้วยเครื่องเขย่า (Shaker) ทำการจับเวลาเพื่อเก็บสารตัวอย่างที่เวลา 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270, 300, 330, และ 360 นาที หลังจากดึงสารตัวอย่างมาแล้วจะทำการกรองเอาผงใบขี้เหล็กออก เราจะทำการวิเคราะห์สารตัวอย่าง เพื่อหาปริมาณของสารบาราคอล ด้วยเครื่อง HPLC (High Performance Liquid Chromatography) เพื่อหาเวลาที่เหมาะสมในการสกัดใบขี้เหล็ก

4.7) การทดลองการดูดซับของเอธานอลในเยื่อแผ่นยางซิลิโคน

เตรียมสารละลายที่สกัดจากผงใบขี้เหล็กแห้งดังนี้ ใช้ผงใบขี้เหล็กขนาดเล็กกว่า 500 ไมโครเมตร ใช้ปริมาณผงใบขี้เหล็ก 10 กรัม ต่อตัวทำละลายเอธานอล 15 เปอร์เซนต์โดยปริมาตร จำนวน 100 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ทำการเขย่าด้วยเครื่องเขย่าเป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วชั่งน้ำหนักเยื่อแผ่นยางซิลิโคนจำนวน 1 กรัม พร้อมทั้งชั่งน้ำหนักสารละลายน้ำสกัดจากใบขี้เหล็กในขวดรูปชมพู่ก่อน บันทึกค่าน้ำหนักเอาไว้ ทำการแช่ขวดรูปชมพู่ที่บรรจุเยื่อแผ่นซิลิโคนเอาไว้ลงในอ่างน้ำซึ่งควบคุมอุณหภูมิได้คงที่ตลอดเวลา ทิ้งไว้จนอยู่ในสภาวะสมดุลยโดยใช้เวลาเท่ากับ 48 ชั่วโมง นำสารละลายที่เหลือมาวิเคราะห์หาความเข้มข้นของเอธานอล นำเยื่อแผ่นยางซิลิโคนมาชั่งน้ำหนักหลังการแช่ บันทึกค่าน้ำหนัก แล้วทำการคำนวณการดูดซับของเยื่อแผ่นกับ

สารละลาย หาปริมาณการดูดซับของสารละลาย ทำการทดลองที่อุณหภูมิ 30, 40, และ 50 องศาเซลเซียส (การคำนวณการดูดซับของเยื่อแผ่นกับสารละลายแสดงในภาคผนวก ก.)

4.8) การทดลองของกระบวนการเพอร์เวเพอเรชัน

ขั้นตอนการเตรียมสารป้อนในกระบวนการเพอร์เวเพอเรชันมีเงื่อนไขดังนี้ ทำการบดใบขี้เหล็กแห้งให้มีขนาดเล็กกว่า 500 ไมโครเมตร ใช้ตัวทำละลายเอธานอล 15 เปอร์เซนต์โดยปริมาตร ใช้อัตราส่วนผงใบขี้เหล็ก 10 กรัมต่อตัวทำละลายปริมาณ 100 มิลลิลิตร เนื่องจากมีความต้องการใช้สารสกัดปริมาณ 5 ลิตร จึงใช้การกวนในการสกัดผงใบขี้เหล็กแห้ง ดังแสดงในรูปที่ 4.2 โดยควบคุมความเร็วรอบของใบกวนที่ 250 รอบต่อนาที ใช้เวลาในการกวนเท่ากับ 2 ชั่วโมง ในการกวนแต่ละครั้งจะใช้ตัวทำละลายเท่ากับ 2 ลิตร และใช้น้ำหนักผงใบขี้เหล็กแห้งเท่ากับ 200 กรัม แล้วทำการกรองผงใบขี้เหล็กออก ทำการเตรียมสารสกัดจนกว่าจะได้ปริมาณสารสกัดใบขี้เหล็กจำนวน 4-5 ลิตร เพื่อใช้เป็นสารป้อนในกระบวนการเพอร์เวเพอเรชัน ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 5 ลิตร ดังนั้นในสารป้อนจะประกอบด้วย สารละลายเอธานอล น้ำและสารสกัดใบขี้เหล็ก นำขวดรูปชมพู่ที่ใส่สารสกัดลงแช่ในอ่างน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิได้คงที่ตลอดเวลา ดังรูปที่ 4.3 และ 4.4 ทั้งนี้เพื่อให้สารป้อนมีอุณหภูมิตามที่กำหนดเอาไว้ จากนั้นสารป้อนจะถูกส่งผ่านไปยังโมดุลของเยื่อแผ่นซิลิโคนโดยใช้ปั๊มแบบรีด ที่ควบคุมอัตราการไหลของสารป้อนเท่ากับ 1 ลิตรต่อชั่วโมงและควบคุมอุณหภูมิในสายการป้อนให้ไหลวนจนกระทั่งอุณหภูมิคงที่เปิดปั๊มสูญญากาศด้านเพอร์มิเอท ไอของเพอร์มิเอทจะถูกดึงออกผ่านเกจวัดค่าความดัน และถูกควบแน่นที่ชุดควบแน่น (Cold Trap) โดยใช้น้ำแข็งแห้ง (Dry Ice) ล้อมรอบอยู่ จากสายป้อนผ่านเยื่อแผ่นซิลิโคนจะไหลออกไปยังสายรีเทนเตทโดยมีถังเก็บรีเทนเตท (Retentate Tank) เพื่อให้สภาวะในการดำเนินการอยู่ในสภาวะคงตัว ชั่วโมงที่ 1 จะใช้ชุดควบแน่นที่ 1 ต่อจากนั้นชั่วโมงที่ 2-4 จึงเริ่มเก็บสารตัวอย่างโดยใช้ชุดควบแน่นที่ 2 นำเพอร์มิเอทที่เก็บออกมาได้ไปชั่งน้ำหนัก และนำไปวิเคราะห์หาปริมาณเอธานอลที่แยกออกมา รวมทั้งนำ

ไปวิเคราะห์หาปริมาณสารบาราคอลที่แยกออกมาด้วย โดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟฟี และเครื่อง HPLC ตามลำดับ

สภาวะที่ทำการทดลอง

อุณหภูมิ 30, 40 และ 50 องศาเซลเซียส

ความดันเพอร์มิเอท 2, 5, และ 10 ทอร์

4.9) ขั้นตอนการวิเคราะห์สารตัวอย่าง

4.9.1การทำกราฟมาตราฐานของสารบาราคอล (Barakol)

ทำการชั่งสารบาราคอลมาตราฐานมา 0.030 กรัม เติมเอธานอลปริมาตร 20 มิลลิลิตร จะได้สารละลายมาตราฐานเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการแยกสารออกเป็น 4 ส่วนซึ่งมีปริมาตรดังนี้ 1, 3, 5 และ 8 มิลลิลิตร แล้วทำการเติมเอธานอลให้ครบ 10 มิลลิลิตร เราจะได้สารละลายบาราคอลมาตราฐานเป็น 0.15, 0.45, 0.75, 1.2 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรนำไปทำการฉีดด้วยเครื่อง HPLC (High Performance Liquid Chromatography) เพื่อทำการหาพื้นที่ของพีค ซึ่งมีเงื่อนไขในการวิเคราะห์ดังนี้

Column : Partisil, 10 μm, 25 Cm

Mobile phase : MeOH, 0.05 M Sodium acetate (50:50)

Flow rate : 1.0 ml/min

Detector : UV 242 nm

Solvent : MeOH

เมื่อทำการวิเคราะห์จะได้ Retention time ประมาณ 7.2 นาที

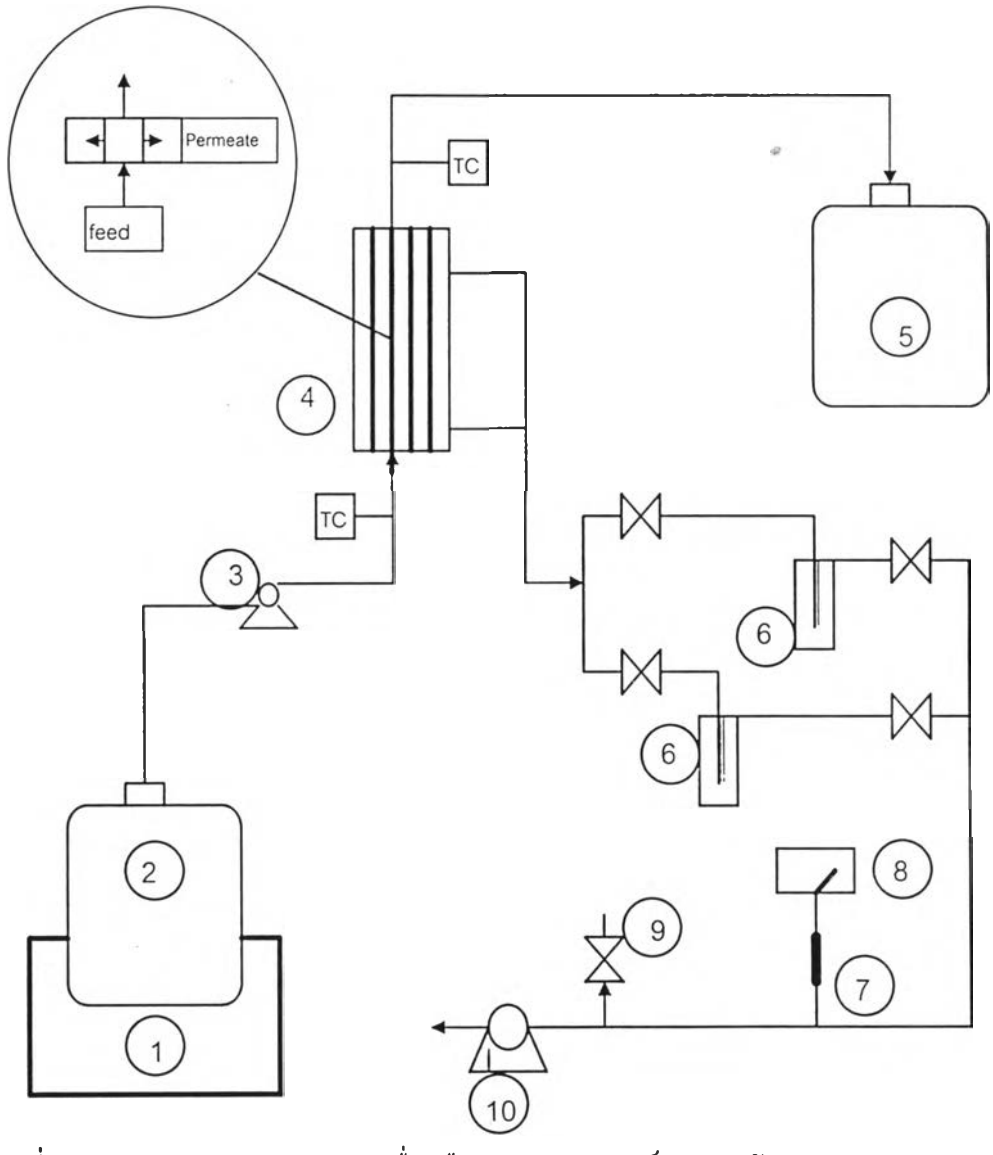
4.9.2การทำกราฟมาตราฐานของเอธานอล

ทำการตวงสารเอธานอล (Ethanol) มา 0.2, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6 และ 2.0 มิลลิลิตร นำมาใส่ในหลอดทดลอง แล้วทำการเติมน้ำให้ครบ 10 มิลลิลิตร เราจะได้ความเข้มข้นของเอธานอลเป็น 2, 4, 8, 12, 16 และ 20 เปอร์เซนต์โดยปริมาตร ต่อจากนั้นนำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC (Gas Chromatography) โดยมีเงื่อนไขในการวิเคราะห์ดังนี้

Column	:Parapack Q 30Cm
Column temp.	: 180 °C
Injection temp.	: 220 °C
Detector temp(FID)	: 220 °C
N_2 Flow	: 40 ml/min
Attention	: 2^4 - 2^6

โดยเมื่อทำการวิเคราะห์แล้วจะได้ Retention Time ที่เวลาประมาณ 2.4 นาที

รูปที่ 4.2 แสดงการสกัดสารละลายบาราคอลจากใบขี้เหล็กโดยการกวน

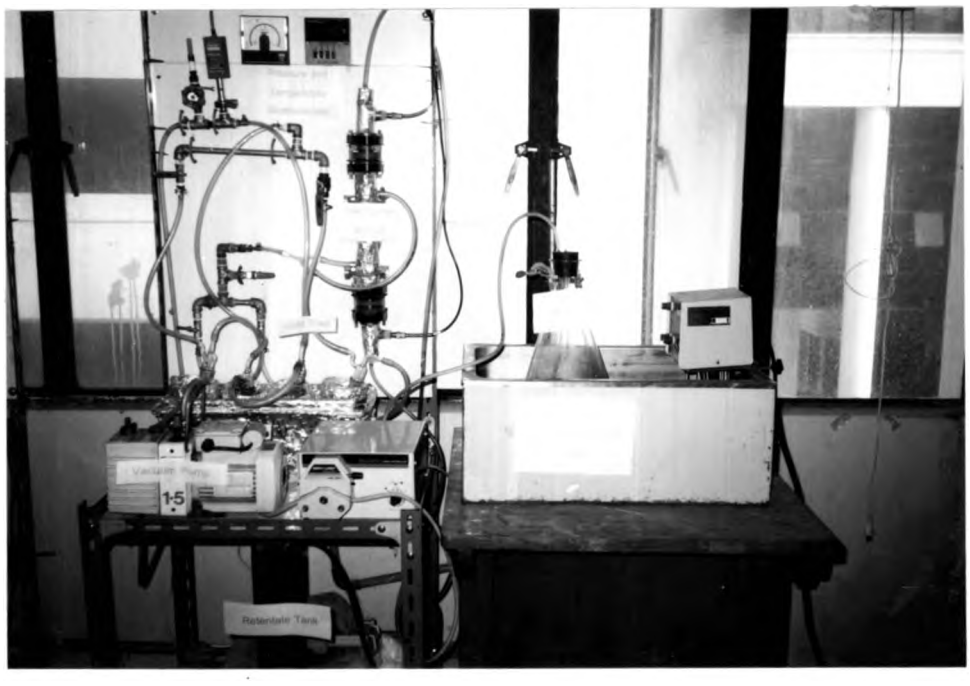


รูปที่ 4.3 แสดงแผนภาพของชุดเครื่องมือการทดลองเพอร์เวเพอเรชัน

1. Constant Temperature Bath
2. Feed Reservoir
3. Feed Pump
4. Silicone Hollow Fiber Module
5. Retentate Tank

TC Thermocouple

6. Cold Trap
7. Pirani Vacuum Mesurement
8. Pirani Vacuum Gauge
9. Regulating Valve
10. Vacuum Pump



รูปที่ 4.4 แสดงส่วนประกอบต่างๆ ของอุปกรณ์เพอร์เวเพอเรชัน