



บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

3.1.1 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมตัวเร่งปฏิกิริยา

1. แมกนีเซียมไนเตรต (Magnesium nitrate, $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$, 99%) : Ajax Finechem
2. อะลูมิเนียมไนเตรต (Aluminium nitrate, $Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$, 99%) : Ajax Finechem
3. โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate, Na_2CO_3 , 99.8%) : Ajax Finechem
4. โซเดียมเมทอกไซด์ (Sodium methoxide, CH_3ONa , 99.8%) : Fluka
5. โพแทสเซียมเอทอกไซด์ (Potassium ethoxide, C_2H_5OK , 99.8%) : Fluka
6. ลิเทียมไอโซโพรพอกไซด์ (Lithium isopropoxide, C_3H_7OLi , 99.8%) : Fluka
7. โพแทสเซียมเทรตบิวทอกไซด์ (potassium tert-butoxide, C_4H_9OK , 99.8%) : Fluka
8. เตตระไฮโดรฟูแรน (Tetrahydrofuran, C_4H_8O , 99.5%) : Qrec

3.1.2 สารเคมีที่ใช้ในการศึกษาการดูดซับของตัวเร่งปฏิกิริยา

1. เมทิลลอเรต (Methy laurate, $C_{13}H_{26}O_2$, 98%) : Fluka
2. กลีเซอรอล (Glycerol, $C_3H_8O_3$, 99.5%) : Ajax Finechem
3. 1,4-ไดออกเซน (Dioxane, $((C_2H_4)_2O_2$, 99%) : Fisher Scientific

3.1.3 สารเคมีที่ใช้ในการทำทรานส์เอสเทอร์ฟิเคชัน

1. เมทิลลอเรต (Methy laurate, $C_{13}H_{26}O_2$, 98%) : Fluka
2. กลีเซอรอล (Glycerol, $C_3H_8O_3$, 99.5%) : Ajax Finechem
3. แก๊สไนโตรเจน (Nitrogen gas, N_2 , 99.99%) : TIG

3.1.4 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์เมทิลลอเรตและกลีเซอไรด์

1. โมโนลอรีน (Monolaurin, $C_{15}H_{30}O_4$, 99%) : Sigma Aldrich
2. ไดลอรีน (Dilaurin, $C_{27}H_{52}O_5$, 99%) : Sigma Aldrich
3. ไตรลอรีน (Trilaurin, $C_{39}H_{74}O_6$, 99%) : Sigma Aldrich

4. เมทิลลอเรต (Methyl laurate, $C_{13}H_{26}O_2$, 98%) : Fluka
5. เมทิลเฮปตะเดคาโนเอต (Methyl heptadecanoate, $C_{18}H_{36}O_2$, 99.5%) : Fluka
6. ไพริดีน (Pyridine, C_5H_5N , 99%) : Carlo Erba
7. นอร์มอล-เฮปเทน (n-Heptane, $n-C_7H_{16}$, 99%) : Merck
8. N-Methyl-N-(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (MSTFA, $C_6H_{12}SiF_3NO$, 99%) : Sigma Aldrich

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

3.2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมตัวเร่งปฏิกิริยา

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัยสำหรับเตรียมตัวเร่งปฏิกิริยาประกอบด้วย

1. ช้อนตักสาร (spatula)
2. โถปลอดความชื้น (desiccator)
3. เครื่องชั่ง (analytical balance)
4. บีกเกอร์ (beaker) ขนาด 100, 250 และ 1000 มิลลิลิตร
5. ขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 100 และ 250 มิลลิลิตร
6. ขวดก้นกลมสามคอ (three-neck round bottom flask) ขนาด 1000 มิลลิลิตร
7. จุกปิดปากขวดก้นกลม (stopper)
8. เครื่องกวน (stirrer plate)
9. แท่งกวนแม่เหล็ก (magnetic bar)
10. ปั๊ม (peristaltic pump)
11. กระจกทรงเบอร์ 42 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 250 มิลลิเมตร
12. ตู้อบไฟฟ้า (oven)
13. เครื่องวัดพีเอช (pH meter)
14. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)
15. ชุดกรองปั๊มสุญญากาศ (suction flask and vacuum pump)
16. เครื่อง hydrothermal synthesis

3.2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทำทรานส์เอสเทอร์ฟิเคชัน

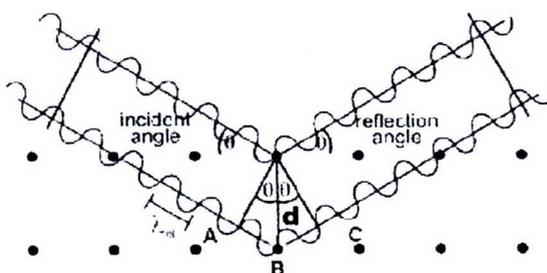
เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้สำหรับการทำทรานส์เอสเทอร์ฟิเคชันประกอบด้วย

1. ขวดก้นกลมสามคอ (three-neck round bottom flask) ขนาด 50 มิลลิลิตร
2. กรวยหยด (dropping funnel)
3. คอลัมน์แก้ว (glass column)
4. เทอร์โมมิเตอร์ (thermometer)
5. อ่างน้ำมันพาราฟิน (paraffin oil bath)
6. เครื่องกวนพร้อมให้ความร้อน (hot plate stirrer)
7. แท่งกวนแม่เหล็ก (magnetic bar)
8. สายยางเทฟลอน (teflon tube) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 1/16 นิ้ว
9. ไมโครปิเปต (micropipette)

3.2.3 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ตัวเร่งปฏิกิริยา

- 1) เครื่องเอกซเรย์ดิฟแฟรคโทมิเตอร์ (X-ray diffractometer : XRD)

เครื่อง XRD ที่ใช้วิเคราะห์ในงานวิจัยนี้เป็น รุ่น D8 Discover ของ Bruker เครื่อง XRD เป็นเครื่องมือที่ใช้หลักการของการยิงรังสีเอกซ์ที่ทราบความยาวคลื่นไปกระทบลงบนระนาบผลึกของสารตัวอย่าง การเลี้ยวเบนจะเกิดขึ้นเมื่อเส้นทางการเดินของรังสีทั้งสองต่างกันเป็นจำนวนเท่าของความยาวคลื่น เมื่อรังสีตกกระทบทำมุม θ กับระนาบของผลึกซึ่งมีระยะห่างระหว่างระนาบเท่ากับ d ก็จะมีรังสีสะท้อนทำมุมขนาดเท่ากับมุมตกกระทบ (θ) ดังแสดงใน รูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 เทคนิค X-ray diffraction (XRD)

เงื่อนไขของการเลี้ยวเบนของรังสี คือ

$$AB + BC = n\lambda$$

แต่ $AB = BC = d \sin \theta$

ดังนั้น $d \sin \theta = n\lambda$ (3.1)

สมการที่ 3.1 เรียกว่า "Bragg's Equation" เป็นเงื่อนไขการเลี้ยวเบนของรังสี

เมื่อ d คือ ระยะห่างระหว่างระนาบ, อังสตรอม (interplanar spacing, Å)

λ คือ ความยาวคลื่น, อังสตรอม (wavelength, Å)

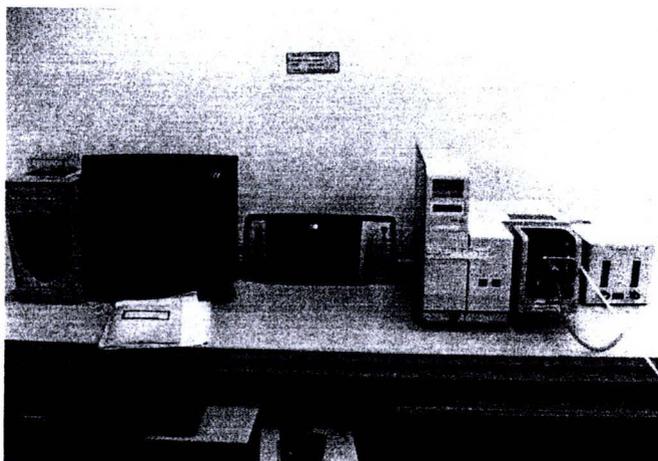
θ คือ มุมตกกระทบของรังสีเอ็กซ์กับระนาบ (angle between the lattice plane and X-Ray, degree)

n คือ จำนวนเต็ม

เนื่องจากสารประกอบและธาตุที่มีส่วนผสม หรือโครงสร้างต่างกัน จะทำให้เกิดการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ที่มุมที่มีองศาต่างกัน ข้อมูลที่ได้รับจึงสามารถบ่งบอกชนิดของสารประกอบที่มีอยู่ในสารตัวอย่าง และสามารถนำมาศึกษารายละเอียดเกี่ยวกับโครงสร้างผลึกของสารตัวอย่างนั้น ๆ ได้

2) เครื่องวิเคราะห์เชิงความร้อน (Thermal analyzer)

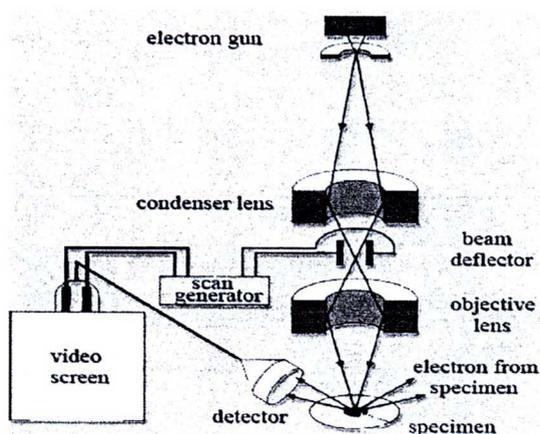
เครื่อง Thermal analyzer ที่ใช้ในการวิเคราะห์ในงานวิจัยนี้เป็น รุ่น Pyris Diamond ของ PerkinElmer แสดงดังรูป ที่ 3.2 โดยใช้เทคนิคเทอร์โมแกรวิเมตริก/ดิฟเฟอเรนเชียลเทอร์มอลอนาลิซิส (Thermogravimetric/differential thermal analysis : TG/DTA) ซึ่งวิเคราะห์การสูญเสียน้ำหนักเมื่อได้รับความร้อนและวัดน้ำหนักของสารตัวอย่างเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงทุกช่วงอุณหภูมิ เครื่องประกอบด้วย เตาเผา (furnace) ที่มีโปรแกรมควบคุมอุณหภูมิ (temperature programmer) และมีระบบการชั่งน้ำหนักเข้ามาประกอบ ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการทดสอบสามารถนำไปวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของสารตัวอย่างที่ทดสอบ เช่น อุณหภูมิการสลายตัว



รูปที่ 3.2 เครื่อง Thermal analyzer รุ่น Pyris Diamond ของ PerkinElmer

3) เครื่องสแกนิงอิเล็กตรอนไมโครสโคป (Scanning electron microscope : SEM)

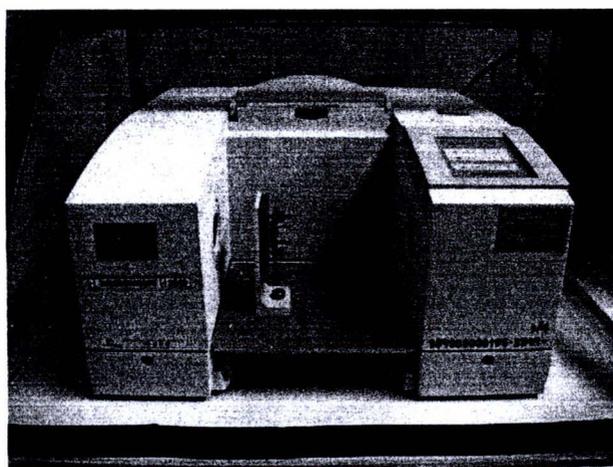
เครื่อง SEM ที่ใช้วิเคราะห์ในงานวิจัยนี้เป็น รุ่น JSM-5800 LV ของ JEOL เครื่อง SEM เป็นเครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์สัณฐาน (morphology) และขนาดของตัวเร่งปฏิกิริยา หลักการทำงานของ SEM แสดงดังรูป ที่ 3.3 เริ่มจากการปล่อยลำอิเล็กตรอนปฐมภูมิจากแหล่งกำเนิดอิเล็กตรอน (electron gun) โดยใช้เลนส์แม่เหล็กไฟฟ้า (electromagnetic lens) ไฟกัลสอิเล็กตรอนนั้นให้ตกกระทบผิวหน้าของสารตัวอย่าง ทำให้อิเล็กตรอนของสารตัวอย่างหรืออิเล็กตรอนทุติยภูมิหลุดออกมา แล้วสะท้อนไปยังเครื่องรวบรวมอิเล็กตรอน เครื่องจับสัญญาณจะจับสัญญาณไว้แล้วขยายให้มากขึ้น เพื่อส่งผลและแปรเป็นภาพออกมา



รูปที่ 3.3 เทคนิค Scanning electron microscopy (SEM)

4) เครื่อง FTIR พูริเออร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์ (Fourier Transform Infrared Spectrometer ; FTIR)

เครื่อง FTIR ที่ใช้วิเคราะห์ในงานวิจัยนี้เป็น รุ่น Spectrum One ของ PerkinElmer แสดงดังรูปที่ 3.4 เป็นเครื่องที่ใช้วิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันที่สำคัญของตัวเร่งปฏิกิริยา วิธีนี้เป็นการวัดความเข้มแสงหรือกำลังของแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆกันอย่างต่อเนื่อง อาศัยหลักการสั่นของโมเลกุลเนื่องมาจากการให้พลังงานโดยการดูดกลืนรังสีอินฟราเรด ซึ่งเป็นพลังงานมากพอที่จะทำให้โมเลกุลเกิดการสั่นหรือเกิดการหมุนที่มีลักษณะเฉพาะของแต่ละโมเลกุลและอยู่ในช่วงความถี่เฉพาะ ทำให้สามารถตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันที่แตกต่างกันภายในโครงสร้างของตัวเร่งปฏิกิริยาได้



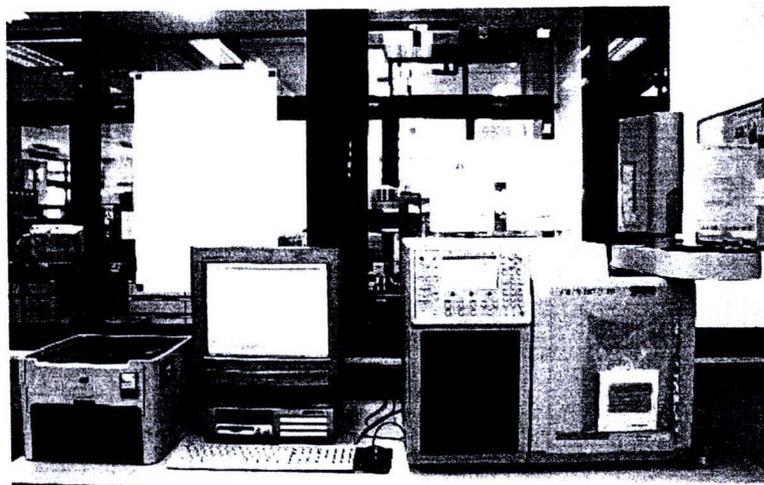
รูปที่ 3.4 เครื่อง Fourier Transform Infrared Spectrometer รุ่น Spectrum One ของ PerkinElmer

3.2.4 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์เมทิลลอเรตและผลิตภัณฑ์กลีเซอไรด์

ปริมาณเมทิลลอเรตที่เหลือและผลิตภัณฑ์กลีเซอไรด์ที่เกิดขึ้นสำหรับงานวิจัยนี้ทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี รุ่น CP-3800 ของ Varian แสดงดังรูปที่ 3.5 ประกอบด้วยเครื่องฉีดตัวอย่างอัตโนมัติใช้ Capillary column รุ่น AT-1 HT ขนาด 0.25 มิลลิเมตร ยาว 10 เมตร ภายในบรรจุ ATTM-1 ht ขนาด 0.25 ไมโครเมตร ซึ่งทำหน้าที่เป็นเฟสคงที่ สามารถทนอุณหภูมิได้สูงสุด 380 องศาเซลเซียสและใช้ดีเทคเตอร์ ชนิด FID เพื่อวิเคราะห์ปริมาณเมทิลลอเรตที่เหลือและกลีเซอไรด์ในผลิตภัณฑ์ ภาวะในการวิเคราะห์สำหรับหาการเปลี่ยนแปลงของเมทิลลอเรตและการกระจายของผลิตภัณฑ์ดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ภาวะในการวิเคราะห์เมทิลลอรตและผลิตภัณฑ์กลีเซอไรด์

Conditions	Value
Carrier gas (He) flow rate	1.5 mL/min
Make up gas (He) pressure	28 kPa
Hydrogen pressure (for FID)	30 kPa
Air pressure (for FID)	300 kPa
Detector temperature (FID)	380 °C
Split ratio	Off
Inject volume	0.1 μ L
Column initial temperature	50 °C
Column temperature	370 °C



รูปที่ 3.5 เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas chromatograph) รุ่น CP-3800 ของ Varian

3.3 ขั้นตอนการดำเนินการทดลอง

3.3.1 การเตรียมตัวเร่งปฏิกิริยาและการตัดแปรตัวเร่งปฏิกิริยาด้วยการสอดแทรก

3.3.1.1 ตัวเร่งปฏิกิริยาแมกนีเซียม-อะลูมิเนียมเลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์

การเตรียมตัวเร่งปฏิกิริยาแมกนีเซียม-อะลูมิเนียมเลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์โดยการตกตะกอนรวม (co-precipitation) ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

1. เตรียมสารละลายเกลือไนเตรตผสมของโลหะแมกนีเซียมและอะลูมิเนียมความเข้มข้น 1.5 โมลต่อลิตร โดยมีอัตราส่วนโดยโมลของ Mg^{2+}/Al^{3+} เท่ากับ 3 ลงในขวดสามคอซึ่งยึดอยู่กับขาตั้ง ต่อกอด้านหนึ่งของขวดเข้ากับเครื่องวัดพีเอชและคอที่เหลือต่อกับท่อแก๊สไนโตรเจนและสายยางเทฟลอนป้อนสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ปริมาณของแมกนีเซียมและอะลูมิเนียมที่ใช้แสดงไว้ในตัวอย่างการคำนวณในภาคผนวก ก
2. เตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 2 โมลต่อลิตร จากนั้นหยดสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตลงในสารละลายเกลือไนเตรตผสมของโลหะแมกนีเซียมและอะลูมิเนียมเพื่อให้เกิดการตกตะกอน โดยควบคุมค่าพีเอชสุดท้ายเท่ากับ 10 ภายใต้การกวนด้วยแท่งกวนแม่เหล็ก ที่ อุณหภูมิห้อง ของผสมที่ได้มีลักษณะเป็นตะกอนสีขาวขุ่น
3. กวนของผสมที่ตกตะกอนได้จากข้อ 2 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิเป็นเวลา 20 ชั่วโมง
4. กรองแยกเอาตะกอนที่ได้จากข้อ 3 ออกโดยใช้กระดาษกรองเบอร์ 42 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 250 มิลลิเมตรด้วยชุดกรองพร้อมปั๊มสุญญากาศและล้างด้วยน้ำกลั่นจนพีเอชเท่ากับ 7
5. นำของแข็งที่กรองได้ไปอบข้ามคืนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จากนั้นนำของแข็งที่ได้ไปเก็บในตู้อบความชื้นเพื่อนำไปใช้เป็นสารตั้งต้นในการสอดแทรก กำหนดตัวเร่งปฏิกิริยาที่เตรียมได้ คือ $NO_3^-MgAl LDH$



3.3.1.2 การดัดแปรตัวเร่งปฏิกิริยาแมกนีเซียม-อะลูมิเนียมเลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์โดยการสอดแทรกด้วยแอลคอกไซด์ไอออน

การเตรียมตัวเร่งปฏิกิริยาแมกนีเซียม-อะลูมิเนียมเลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์สอดแทรกด้วยแอลคอกไซด์โดยการแลกเปลี่ยนไอออน (ion-exchange) ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

1. เตรียมสารละลายโลหะแอลคอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยใช้เตตระไฮโดรฟิวแรนเป็นตัวทำละลาย ลงในขวดสามคอ ซึ่งคอด้านหนึ่งต่อกับท่อแก๊สไนโตรเจน โดยปริมาณแอลคอกไซด์ที่ใช้แสดงไว้ในตัวอย่างการคำนวณในภาคผนวก ก
2. เติมตัวเร่งปฏิกิริยาแมกนีเซียม-อะลูมิเนียมเลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์ที่เตรียมได้จาก ข้อ 3.3.1.1 ลงในขวดสามคอที่บรรจุสารละลายของโลหะแอลคอกไซด์ภายใต้การกวนด้วยแท่งกวนแม่เหล็ก ณ อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมงภายใต้สภาวะไนโตรเจน
3. กรองแยกของแข็งจากข้อ 2 ออกโดยใช้กระดาษกรองเบอร์ 42 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 250 มิลลิลิตรด้วยชุดกรองพร้อมปั๊มสุญญากาศและล้างด้วยเตตระไฮโดรฟิวแรน 300 มิลลิลิตร
4. อบของแข็งที่กรองได้ข้ามคืนที่อุณหภูมิห้อง
5. นำของแข็งที่ได้ไปเก็บในตู้อบความชื้น ก่อนนำไปศึกษาการดูดซับและการเร่งทรานส์เอสเทอร์ฟิเคชัน กำหนดตัวเร่งปฏิกิริยาที่เตรียมได้ คือ X-MgAl LDH โดย X แทน CH_3O^- , $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}^-$, $i\text{-C}_3\text{H}_7\text{O}^-$, $t\text{-C}_4\text{H}_9\text{O}^-$

3.3.1.3 การดัดแปรตัวเร่งปฏิกิริยาแมกนีเซียมอะลูมิเนียมเลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์โดยสอดแทรกด้วยไฮดรอกไซด์

เตรียมตัวเร่งปฏิกิริยาแมกนีเซียม-อะลูมิเนียมเลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์สอดแทรกด้วยไฮดรอกไซด์โดยการฟื้นฟูสภาพ (reconstruction) ขั้นตอนในการเตรียมมีดังนี้

1. เผาตัวเร่งปฏิกิริยาแมกนีเซียม-อะลูมิเนียมเลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์ที่เตรียมได้จาก ข้อ 3.3.1.1 ที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 ชั่วโมง
2. เติมตัวเร่งปฏิกิริยา (จากข้อ 1) 0.5 กรัม ลงในท่อเทฟลอนที่บรรจุน้ำกลั่นปริมาตร 25 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปใส่เครื่อง hydrothermal synthesis ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3. จากนั้นกรองแยกเอาของแข็งที่ได้จากข้อ 2 ออกโดยใช้กระดาษกรองเบอร์ 42 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 250 มิลลิเมตรด้วยชุดกรองพร้อมปั๊มสุญญากาศ
4. นำของแข็งที่กรองได้ไปอบข้ามคืนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส
5. จากนั้นนำของแข็งที่ได้ไปเก็บในตู้ความชื้น กำหนดตัวเร่งปฏิกิริยาที่เตรียมได้ คือ OH^- -MgAl LDH

3.3.2 การศึกษาการดูดซับของตัวเร่งปฏิกิริยา

ศึกษาการดูดซับสารตั้งต้นกลีเซอรอลและเมทิลลอรเรตบนตัวเร่งปฏิกิริยาแมกนีเซียม-อะลูมิเนียมเลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์ที่สอดแทรกด้วยแอลคอกไซด์ มีขั้นตอนดังนี้

1. เตรียมสารละลายของกลีเซอรอลหรือเมทิลลอรเรต ความเข้มข้น 0.05, 0.10, 0.25 และ 0.40 โมลต่อลิตร ปริมาตร 25 มิลลิตร โดยใช้ 1,4-ไดออกเซนเป็นตัวทำละลาย ในช่วงที่มีฝาปิดสนิท ปริมาณกลีเซอรอลและเมทิลลอรเรตที่ใช้แสดงไว้ในตัวอย่างการคำนวณในภาคผนวก ก
2. เติมตัวเร่งปฏิกิริยาแมกนีเซียม-อะลูมิเนียมเลเยอร์ดับเบิลไฮดรอกไซด์ที่สอดแทรกด้วยแอลคอกไซด์ลงในสารละลายที่เตรียมได้จากข้อ 1 ภายใต้การกวนด้วยแท่งกวนแม่เหล็ก ณ อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
3. กรองแยกเอาของแข็งที่ได้จากข้อ 2 ออก โดยนำสารละลายไปทำการวิเคราะห์หาปริมาณกลีเซอรอลหรือเมทิลลอรเรตด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี

3.3.3 การเร่งทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของเมทิลลอรเรตกับกลีเซอรอล

1. นำเมทิลลอรเรตและกลีเซอรอล ผสมภายในขวดก้นกลมสามคอ ต่อเข้ากับกรวยหยด ท่อแก๊สไนโตรเจน และคอนเดนเซอร์
2. ให้ความร้อนกับของผสมของเมทิลลอรเรตและกลีเซอรอล ด้วยอ่างน้ำมันพาราฟินที่อุณหภูมิต่างๆ ภายใต้บรรยากาศไนโตรเจน ด้วยอัตราการไหล 100 มิลลิตรต่อนาที และกวนของผสมด้วยแท่งกวนแม่เหล็กที่อัตราเร็ว 300 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที
3. เติมตัวเร่งปฏิกิริยาที่ผ่านการอบที่ 100 องศาเซลเซียส ลงไปทำทรานส์เอสเทอริฟิเคชันกับเมทิลลอรเรตและกลีเซอรอลในช่วงก้นกลมสามคอ ทำปฏิกิริยาต่อเนื่องจนสิ้นสุดปฏิกิริยาตามเวลาที่กำหนด โดยปริมาณสารตั้งต้นและตัวเร่งปฏิกิริยาที่ใช้ในแสดงไว้ในตัวอย่างการคำนวณในภาคผนวก ข

4. เจือจางของผสมผลิตภัณฑ์ที่ได้ด้วยไพรีดีน แล้วกรองแยกตัวเร่งปฏิกิริยาออกจากของผสม
5. นำของผสมผลิตภัณฑ์ไปทำการวิเคราะห์หาปริมาณด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี

3.3.4 การทำเมทิลลอเรตและกลีเซอไรด์ให้เป็นอนุพันธ์ที่ระเหยง่าย

การทำเมทิลลอเรตที่เหลือและกลีเซอไรด์ให้เป็นอนุพันธ์ที่ระเหยง่าย ใช้วิธีการที่ดัดแปลงจากมาตรฐาน EN 14105

1. ชั่งน้ำหนักของผสมผลิตภัณฑ์ 0.10xx กรัมลงในขวดปริมาตร (vial)
2. เติม MSTFA เข้มข้นร้อยละ 99 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เพื่อเปลี่ยนเมทิลลอเรตและกลีเซอไรด์ให้เป็นอนุพันธ์ของเมทิลลอเรตและกลีเซอไรด์ เขย่าอย่างแรง 1 นาที จากนั้นตั้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลานาน 25 นาที
3. เติมเมทิลเฮปตะเดคาโนเอต เข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เป็น internal standard เทียบกับเมทิลเฮกซะเทอร์, โมโน-, ได- และ ไตรกลีเซอไรด์แล้วปรับปริมาตรด้วยนอร์มัล-เฮปเทน

3.3.5 การวิเคราะห์ปริมาณเมทิลลอเรตและกลีเซอไรด์

การวิเคราะห์หาปริมาณเมทิลลอเรตและกลีเซอไรด์ในผลิตภัณฑ์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (GC) ยี่ห้อ Varian ของ CP3800 แบบ FID Detector มีภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 3.1

การวิเคราะห์ปริมาณเมทิลลอเรตและกลีเซอไรด์จะใช้วิธี Internal Standardization Method โดยใช้ เมทิลเฮปตะเดคาโนเอต เป็น internal standard เทียบกับเมทิลลอเรตและกลีเซอไรด์ โดยใช้ นอร์มัล-เฮปเทนเป็นตัวทำละลาย ตัวอย่างโครมาโทแกรมที่ได้และวิธีวิเคราะห์หาปริมาณเมทิลลอเรตที่เหลือและกลีเซอไรด์ ดังแสดงในภาคผนวก ค