

บทที่ 3

วิธีการทดลอง

3.1 เครื่องมือ และอุปกรณ์

1. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง, Sartorius (TE214S)
2. ขวดพิกโนมิเตอร์ ขนาด 50 มิลลิลิตร (pycnometer 50 ml)
3. เครื่องบด (Ball mill)
4. ตู้อบไล่ความชื้น, Binder (ED 53)
5. เครื่องกรองสุญญากาศ (Buchner funnel)
6. เครื่องกวนสารให้ความร้อน (hotplate stirrer)
7. ตู้ดูดความชื้น (desiccator)

3.2 วัสดุดิบ และสารเคมี

1. ไยนุ่ม
2. กรดซัลฟูริก 96.87 เปอร์เซ็นต์ (H_2SO_4 96.87%)
3. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)
4. เคเซฟี่ (KHP, Potassium hydrogen phthalate)
5. ฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphthalein)
6. น้ำมันถั่วเหลือง (Soil bean)
7. เมทิลแอลกอฮอล์ (MeOH)
8. คลอโรฟอร์ม ดี (Chloroform-d)

3.3 การเพิ่มหมู่โอ-ซัลโฟเนชัน (O-Sulfonation) บนไยนุ่ม (Sulfonation reaction)

1. ทำการเตรียมไยนุ่มโดยการล้างให้สะอาดแล้วผึ่งให้แห้ง
2. นำมาย่อย โดยการตัดให้มีขนาดเล็กๆ แล้วใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 1000 มิลลิลิตร
3. ใส่กรดซัลฟูริก (H_2SO_4) และน้ำในอัตราส่วน กรดซัลฟูริกต่อน้ำ (1.5:1)
4. ใส่แท่งคนแม่เหล็ก (Magnetic bar) ลงไป ทำการคนพร้อมทั้งให้ความร้อนที่ 90.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นจึงหยุดให้ความร้อน และทำการคนสารไปตลอด 24 ชั่วโมง

5. เมื่อครบ 24 ชั่วโมงแล้ว ให้นำสารที่ได้มาเจือจางความเป็นกรดด้วยน้ำกลั่น ในอัตราส่วน (1:1) จากนั้นจึงนำไปกรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ (Buchner funnel)

6. นำสารที่ได้จากการกรองมาอบด้วยเครื่องอบสาร เพื่อไล่น้ำออกให้หมด เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเอาออกมาทำให้เย็นที่ตู้ดูดความชื้น (desiccator) แล้วนำมาชั่ง บันทึกน้ำหนักไว้ แล้วนำไปเข้าตู้อบอีกครั้ง ทำซ้ำไปเรื่อยๆ จนกว่าน้ำหนักจะคงที่ เพื่อให้แน่ใจว่าสารทั้งหมดปราศจากน้ำในเนื้อสารแล้ว

7. นำสารที่แห้งแล้วมาบดด้วยเครื่องย่อยสารชนิดหม้อบดแบบลูกบด (Ball mill) เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นนำไปอบอีกครั้ง โดยใช้ขั้นตอนเดียวกันกับข้อ 6

8. เก็บสารที่ผ่านการทำปฏิกิริยาโอ-ซัลโฟเนชัน (O-Sulfonation reaction) แล้ว ไว้ในภาชนะที่ปิดสนิท จากนั้นพ่นด้วยแผ่นพาราฟิล์ม แล้วนำไปเก็บไว้ในตู้ดูดความชื้น (desiccator)

3.4 การวิเคราะห์หาค่าความหนาแน่นของอนุภาค (Particle Density)

1. นำขวด pycnometer ขนาด 50 มิลลิลิตร ที่ล้างสะอาดแล้ว อบให้แห้งในตู้อบ แล้วนำมาทำให้เย็นใน desiccator

2. ชั่งน้ำหนักขวด pycnometer พร้อมจุกปิด (W_a)

3. เติมน้ำกลั่นที่มีอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสจนเต็มขวดแล้วปิดจุกให้แน่น เช็ดภายนอกขวดให้แห้ง ชั่งน้ำหนักขวดพร้อมน้ำเต็มขวด (W_w)

4. เทน้ำในขวด pycnometer ออกให้เหลือครึ่งขวด เช็ดภายนอกขวดให้แห้ง นำไปชั่งน้ำหนัก (W_h)

5. นำตัวเร่งชนิดกรดที่เป็นของแข็งมาอบในตู้อบจนมีน้ำหนักคงที่ ใช้ช้อนขนาดเล็กตักตัวเร่งชนิดกรดมาใส่ในขวด pycnometer โดยใช้กรวยขนาดเล็ก ระวังอย่าให้สารติดข้างขวด ใส่สารลงไปประมาณ 1 กรัม จะต้องทำให้สารจมอยู่ใต้น้ำทั้งหมด นำไปชั่งน้ำหนัก (W_i)

6. นำขวด pycnometer ที่มีตัวเร่งชนิดกรดที่เป็นของแข็งจมอยู่ในน้ำ ไปใส่ใน desiccator ที่ต่อกับเครื่องดูดอากาศ จะต้องดูดอากาศใน ตัวเร่งชนิดกรดที่เป็นของแข็ง ออกให้หมด ใช้เวลาประมาณ 2-3 ชั่วโมง โดยสังเกตว่าไม่มีฟองอากาศออกมาจากของแข็ง (ใยุ่นที่ผ่านการทำโอ-ซัลโฟเนชัน (O-Sulfonation) แล้ว) อีก

7. นำขวด pycnometer ออกจาก desiccator นำไปไว้ในห้องปรับอากาศหรือในตู้เย็น เพื่อปรับให้น้ำ และขวด pycnometer มีอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส แล้วเติมน้ำกลั่นที่มีอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ลงในขวด pycnometer จนเต็มปิดจุก เช็ดภายนอกให้แห้ง นำไปชั่งน้ำหนัก (W_{sw})

8. การหาความหนาแน่นของน้ำที่ 25 องศาเซลเซียส เราสามารถทำได้โดยการนำน้ำที่ทราบปริมาตรที่แน่นอน (เช่น น้ำ 5,10,25 ml หรือที่ 50 ml) ไปชั่งเพื่อหาน้ำหนักของมัน จากนั้นจึงใช้สูตรหาความเข้มข้น $D=M/V$

วิธีคำนวณ

$$W_s = W_h - W_i$$

$$D_s = D_w [(W_s) / (W_w + W_s - W_a - W_{sw})]$$

$$D_w = \text{ความหนาแน่นของน้ำที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (กรัม/ลูกบาศก์เซนติเมตร)}$$

$$D_s = \text{Particle Density (กรัม / ลูกบาศก์เซนติเมตร)}$$

$$W_s = \text{มวลหรือน้ำหนักของใยุ่นที่ทำไอ-ซัลโฟเนชัน (กรัม)}$$

$$W_w = \text{น้ำหนักของน้ำเต็มขวด และขวดฟิสิกโนมิเตอร์ (กรัม)}$$

$$W_a = \text{น้ำหนักของขวดฟิสิกโนมิเตอร์ (กรัม)}$$

$$W_{sw} = \text{น้ำหนักของน้ำเต็มขวด ขวดฟิสิกโนมิเตอร์ และใยุ่นที่ทำไอ-ซัลโฟเนชัน (กรัม)}$$

$$W_h = \text{น้ำหนักของขวดฟิสิกโนมิเตอร์ และน้ำครึ่งขวด (กรัม)}$$

$$W_i = \text{น้ำหนักของขวดฟิสิกโนมิเตอร์ น้ำครึ่งขวด และใยุ่นที่ทำไอ-ซัลโฟเนชัน (กรัม)}$$

*หมายเหตุ : การหาค่า W_s สามารถใช้ฟังก์ชันเซตค่าเป็นศูนย์ ของเครื่องชั่งได้

3.5 การไตเตรทหาความเข้มข้นกรด

1. เตรียม NaOH 0.0200 mol โดยชั่ง NaOH มา 0.0800 กรัม ละลายในน้ำ 100

มิลลิลิตร

2. เตรียม KHP 0.0200 mol เป็นสารละลายมาตรฐาน (Standard Solution) โดยชั่ง KHP มา 0.2042 กรัม ละลายในน้ำ 50 มิลลิลิตร

3. ชั่งใยุ่นที่ทำไอ-ซัลโฟเนชันมา 0.2004 กรัม และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 25 มิลลิลิตร

4. หาความเข้มข้นที่แน่นอนของ NaOH โดยปิเปตต์สารละลายมาตรฐาน KHP ใส่ขวดรูปชมพู่ 3 ใบ ใบละ 5 มิลลิลิตร หยดฟีนอล์ฟทาลีนลงไปขวดละ 3 หยด (ใช้เป็นอินดิเคเตอร์) เมื่อไตเตรทจนถึงจุดยุติ สารละลายจะเปลี่ยนจากสารละลายใส ไปเป็นสีชมพูอ่อน

5. เมื่อทราบความเข้มข้นที่แน่นอนของ NaOH แล้ว จึงนำมาไตเตรทกับสารละลายของใยุ่นที่ทำไอ-ซัลโฟเนชัน โดยปิเปตต์สารละลายใส่ขวดรูปชมพู่ 3 ใบ ใบละ 5 มิลลิลิตร หยดฟีนอล์ฟทาลีน

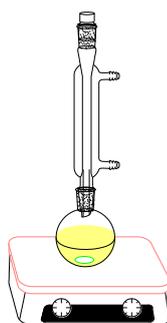
นอร์ฟทาลีนลงไปขวดละ 3 หยด (ใช้เป็นอินดิเคเตอร์) เมื่อไตเตรทจนถึงจุดยุติ สารละลายจะเปลี่ยนจากสารละลายใส ไปเป็นสีชมพูอ่อน

คำนวณโดยใช้สูตร

1. $g = \frac{CV}{1000} \times MW$ (ใช้หาจำนวนกรัมของสารที่จะชั่ง)
2. $C_1V_1 = C_2V_2$ (ใช้หาความเข้มข้น)
3. $Average = \frac{n_1 + n_2 + n_3 + \dots + n_i}{i}$ (ใช้หาค่าเฉลี่ยในการไตเตรท)

3.6 การทำปฏิกิริยาทรานเอสทีเฟอเคชัน (Transesterification) โดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาแบบกรด ชนิดที่ไม่เป็นเนื้อเดียวกันกับสารตั้งต้น และสารผลิตภัณฑ์ (Heterogeneous)

1. ในทำตั้งปฏิกิริยาของเราจะใช้ความเข้มข้นกรดที่ 1%wt ใช้อัตราส่วน น้ำมันต่อเมทานอล (1:30) ใช้อุณหภูมิที่ 80.0 องศาเซลเซียส และคนสาร 400 รอบต่ออนาที
2. ชั่งตัวเร่งชนิดกรดที่เป็นของแข็งมา 1.2680 กรัม ด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ใส่ลงในขวดก้นกลมขนาด 250 มิลลิลิตร
3. ชั่งน้ำมันถั่วเหลืองไป 20.0000 กรัม ใส่แท่งคนแม่เหล็ก (Magnetic bar) ลงไปแล้วนำไปตั้งปฏิกิริยาแบบกะ (Batch reaction) ดังรูปที่ 5



รูปที่ 5 การตั้งปฏิกิริยาแบบกะ (Batch reaction 1)

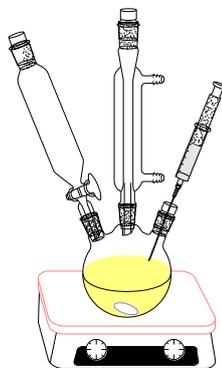
4. เมื่ออุณหภูมิของปฏิกิริยาขึ้นสูงถึง 80.0 องศาเซลเซียส ใส่เมทานอล ลงไป 27.50 มิลลิลิตร จากนั้นตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง
5. เมื่อครบแล้วจึงยกลง หยุดปฏิกิริยาในทันที โดยแช่ในอ่างน้ำแข็งเป็นเวลา 10 นาที
6. นำสารมากรองผ่านเครื่องกรองสุญญากาศ (Buchner funnel)

7. นำน้ำมันที่ได้มาระเหยเมทานอลออก โดยใช้ความร้อนที่ 100.0 องศาเซลเซียส โดยใช้ไอน้ำเป็นตัวให้ความร้อน

8. เมื่อระเหยเมทานอลออกจนหมดแล้ว นำมาใส่กรวยแยกสาร ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที กลีเซอรอลจะอยู่ชั้นล่าง น้ำมันจะอยู่ชั้นบน ให้เทกลีเซอรอลออก จากนั้นดูน้ำมันขึ้นมาเก็บไว้ในหลอดทดลอง เขียนหมายเลขกำกับ และนำไปแช่ในตู้เย็น เพื่อรอนำมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$

3.7 การทำปฏิกิริยาทรานเอสทีริฟิเคชัน (Transesterification) โดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาแบบกรด ชนิดที่เป็นเนื้อเดียวกับสารตั้งต้น และสารผลิตภัณฑ์ (Homogeneous)

1. ในทำตั้งปฏิกิริยาของเราจะใช้ความเข้มข้นกรดที่ 1%wt ใช้อัตราส่วน น้ำมันต่อเมทานอล (1:30) ใช้อุณหภูมิที่ 80.0 องศาเซลเซียส และคนสาร 400 รอบต่อนาที
2. ใช้ไมโครปิเปตต์ (micropipette) ปิเปตต์กรดซัลฟูริก (H_2SO_4) มา 108.70 ไมโครลิตร ใส่ลงในขวดก้นกลมขนาด 250 มิลลิลิตร ชนิด 3 คอ
3. ชั่งน้ำมันถั่วเหลืองไป 20.0000 กรัม ใส่แท่งคนแม่เหล็ก (Magnetic bar) ลงไปแล้วนำไปตั้งปฏิกิริยาแบบกะ (Batch reaction) ดังรูปที่ 6



รูปที่ 6 การตั้งปฏิกิริยาแบบกะ (Batch reaction 2)

4. เมื่ออุณหภูมิของปฏิกิริยาขึ้นสูงถึง 80.0 องศาเซลเซียส ใส่เมทานอล ลงไป 27.50 มิลลิลิตร เริ่มจับเวลา (เป็นการเริ่มปฏิกิริยา)
5. ทำการสุ่มตัวอย่างออกมาปริมาณ 1.0 มิลลิลิตร ทุก 6 ชั่วโมง จนครบ 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงทำการสุ่มตัวอย่าง ทุกๆ 24 ชั่วโมง จนถึง 168 ชั่วโมง
6. ทุกครั้งที่ทำการสุ่มออกมาต้องทำการหยุดปฏิกิริยาในทันที โดยแช่ในอ่างน้ำแข็งเป็นเวลา 10 นาที

7. นำน้ำมันที่ได้มาระเหยเมทานอล ออกโดยใช้ความร้อนที่ 100.0 องศาเซลเซียส โดยใช้ไอน้ำเป็นตัวให้ความร้อน

8. เมื่อระเหยเมทานอลออกหมดแล้ว นำมาใส่กรวยแยกสาร ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที กลีเซอรอลและกรดจะอยู่ชั้นล่าง น้ำมันจะอยู่ชั้นบน ให้ไขกลีเซอรอลออก จากนั้นดูน้ำมันขึ้นมาเก็บไว้ในหลอดทดลอง เขียนหมายเลขกำกับ และนำไปแช่ในตู้เย็น เพื่อรอนำมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$

3.8 การวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ

3.8.1 Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spectroscopy

1. นำตัวอย่างที่เป็นของแข็งมาบดให้ละเอียด
2. อบให้แห้ง เพื่อไล่น้ำออกให้หมด
3. รอให้เย็นลงในโถดูดความชื้น (desiccator)
4. บรรจุลงขวดขนาดเล็กโดยชั่งมาจำนวนหนึ่ง ประมาณ 0.5 กรัม
5. ส่งวิเคราะห์ FTIR ณ ศูนย์ปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

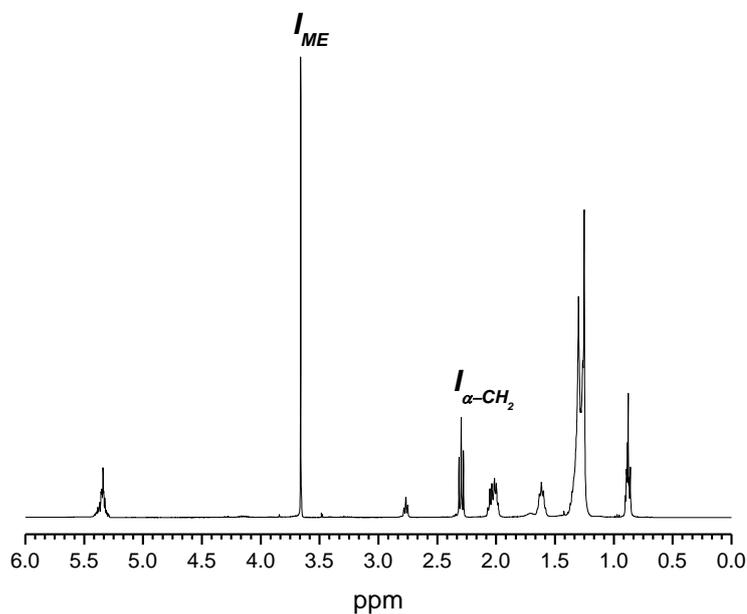
6. กราฟที่ออกมาจะบอกให้ทราบถึงองค์ประกอบทางโมเลกุล และชนิดของสารนั้น โดยดูจากการดูดซับ และทะลุผ่านของรังสีอินฟราเรดที่กระทำกับสารที่เราตรวจวิเคราะห์ โดยใช้ความถี่ต่างๆกันไป

7. โดยปกติสารที่เราเตรียมโดยผ่านการทำไอ-ซัลโฟเนชันกับกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) จะเกิดพีคของ $-\text{SO}_3\text{H}$ stretching ขึ้นที่ประมาณ 1700 cm^{-1} และที่ 1200 cm^{-1}

3.8.2 Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Spectroscopy

1. นำตัวอย่างน้ำมันที่ผ่านการทำปฏิกิริยาทรานเอสเทอร์ฟิเคชันไประเหยเมทานอล โดยใส่ลงไปหลอดทดลอง แล้วจึงนำมาทำการต้มกับน้ำเดือดในบีกเกอร์
2. รอให้เย็นลง จากนั้นจึงหยดใส่หลอด NMR 1 หยด
3. นำ Chloroform-d หยดลงไป โดยใช้ไม้บรรทัดวัดให้ได้ความสูง 4 เซนติเมตร
4. ส่งวิเคราะห์ $^1\text{H-NMR}$ ณ ศูนย์ปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

5. ผลการวิเคราะห์จะออกมาเป็นพีคดัง รูปที่ 5 โดยพีคของ $\alpha\text{-CH}_2$ (alpha methylene) ขึ้นที่ 2.30 ppm และพีคของ O-CH_3 (alpha methylester) ขึ้นที่ 3.66 ppm



รูปที่ 7 ตัวอย่างสเปกตรัมของ ^1H NMR ของน้ำมันที่ผ่านกระบวนการผลิตไบโอดีเซลมาแล้ว

6. สามารถคำนวณการเปลี่ยนแปลงของสารละลายจากไตรกลีเซอไรด์ไปเป็นเมทิลเอสเทอร์ได้จากสมการ โดยอัตราส่วนของเมทิลเอสเทอร์ที่เกิดขึ้นจะคิดเทียบเป็นเปอร์เซ็นต์โดยใช้พื้นที่ใต้กราฟของเมทิลเอสเทอร์เทียบกับพื้นที่ใต้กราฟของแอลฟาเมทิลีนที่มีอยู่ทั้งหมด

$$C_{ME} = \frac{2 \times I_{ME}}{3 \times I_{\alpha-CH_2}} \times 100$$

| | | |
|-------|-------------------|---|
| เมื่อ | C_{ME} | = การเปลี่ยนแปลงของเมทิลเอสเทอร์ |
| | I_{ME} | = พื้นที่ใต้พีคโปรตอนของเมทิลเอสเทอร์ ($-\text{OCH}_3$) |
| | $I_{\alpha-CH_2}$ | = พื้นที่ใต้พีคโปรตอนของกลุ่มเมทิลีน ($\alpha\text{-CH}_2$) |
| | 2 | = จำนวนโปรตอนของกลุ่มเมทิลีน ($\alpha\text{-CH}_2$) |
| | 3 | = จำนวนโปรตอนของเมทิลเอสเทอร์ ($-\text{OCH}_3$) |

3.8.3 Scanning Electron Microscope (SEM)

1. นำตัวอย่างที่เป็นของแข็งมาบดให้ละเอียด
2. อบให้แห้ง เพื่อไล่น้ำออกให้หมด
3. รอให้เย็นลงในตู้ดูดความชื้น (desiccator)
4. บรรจุลงขวดขนาดเล็กโดยชั่งมาจำนวนหนึ่ง ประมาณ 0.5 กรัม
5. ส่งวิเคราะห์ SEM ณ ศูนย์ปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย

นเรศวร