

บทที่ 3 การดำเนินงานวิจัย

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย

3.1.1 สารเคมี

- 3.1.1.1 Deionized Water (DI)
- 3.1.1.2 Polyethersulfone (PES), Udel A-100
- 3.1.1.3 Chitosan (CS), $M_n = 50000$ Da, 85% deacetylated, บริษัทเอ็นเอ็นซี.โปรดักส์
- 3.1.1.4 Dimethylacetamide (DMAC), Fluka 98%
- 3.1.1.5 Alumina (Al_2O_3) ขนาดอนุภาค < 10 micron, Aldrich 99.7%
- 3.1.1.6 Polyvinylpyrrolidone (PVP), MW 100000, Merck
- 3.1.1.7 Polyethylene glycol (PEG), MW 4000, Fluka
- 3.1.1.8 Polyethylene glycol (PEG), MW 15000, Merck
- 3.1.1.9 Polyethylene glycol (PEG), MW 35000, Fluka
- 3.1.1.10 Polyethylene glycol (PEG), MW 100000, Serva
- 3.1.1.11 Polyethylene glycol (PEG), MW 400000, Serva
- 3.1.1.12 Bovine serum albumin (BSA), Fluka
- 3.1.1.13 Di-Sodium hydrogen orthophosphate anhydrous (Na_2HPO_4), BDH
- 3.1.1.14 Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4), Merck
- 3.1.1.15 Sodium hydroxide anhydrous (NaOH), Carlo erba
- 3.1.1.16 Glutaraldehyde (GA), 25% solution, Mn 100.12, (Density = 1.06g/ml)

3.1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ทั่วไป

- 3.1.2.1 อุปกรณ์คาส์เชื่อมต่อแผ่น
- 3.1.2.2 ถาดใส่น้ำ
- 3.1.2.3 Magnetic Stirrer และ Magnetic bar
- 3.1.2.4 แผ่นกระจก
- 3.1.2.5 นาฬิกาจับเวลา
- 3.1.2.6 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Precisa รุ่น XT 220A
- 3.1.2.7 เครื่องวัดพีเอช (pH meter)

3.1.2.8 ตู้อบความร้อน

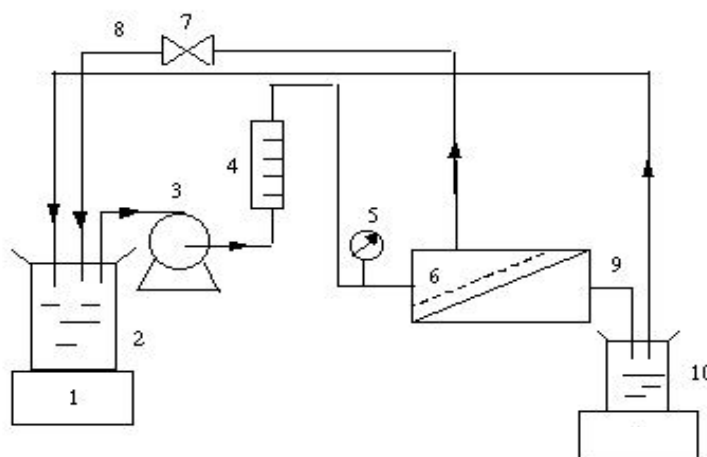
3.1.2.9 กล่องพลาสติกเก็บเยื่อแผ่น

3.1.2.10 UV-VIS Spectrophotometer (Hitachi, model U-3000, Japan) และ 1-cm glass cell

3.1.2.11 เครื่อง High-Performance Liquid Chromatography บริษัท Waters-model 2414

3.1.3 อุปกรณ์อัลตราฟิลเตรชันที่ใช้ในการทดลอง

เป็นระบบ UF ที่มีลักษณะการไหลของสารละลายป้อนแบบไหลขวาง (Radial flow) โดยสารละลายป้อนจะไหลในทิศทางที่ขนานกับผิวหน้าของเยื่อแผ่น แผ่นผังการจัดอุปกรณ์แสดงดังรูปที่ 3.1 มีลักษณะการทำงานดังนี้คือ ปัม (3) ป้อนสารจากถังป้อน (2) ที่มีการกวนตลอดเวลา ผ่านเครื่องวัดอัตราการไหล (4) และเกจวัดความดัน (5) เข้าสู่หน่วยของเยื่อแผ่น (6) รีเทนเททจะไหลผ่านวาล์วควบคุมความดัน (7) กลับสู่ถังป้อนทางท่อรีเทนเทท (8) เพอเมอเททที่ผ่านเยื่อแผ่นจะไหลออกทางท่อเพอเมอเทท (9) และเข้าสู่ที่บรรจุเพอเมอเทท (10) แล้วอ่านปริมาตร แล้วนำกลับสู่ถังป้อนเพื่อควบคุมความเข้มข้นของสารละลายให้คงที่ ในการปรับความดันและอัตราไหลของสารละลายทำได้โดยการปรับวาล์วควบคุมความดัน (7) และปรับปุ่มความเร็วของปัมพร้อมๆกัน รายละเอียดของแต่ละส่วนเป็นดังนี้



รูปที่ 3.1 รูปอุปกรณ์ระบบ UF ในการทดลอง

รายละเอียดแต่ละส่วนของระบบอัลตราฟิเตรชัน

1. เครื่องกวนสาร
2. ถังป้อน (Feed tank) มีขนาดบรรจุประมาณ 1 ลิตร
3. ปั๊ม (Pump) เป็นปั๊มชนิด Peristaltic ยี่ห้อ masterflex โดยสามารถปรับความเร็วของสารป้อนได้ ซึ่งจะมีปั๊มปรับความเร็วตั้งแต่ 0 ถึง 10 ระดับ เมื่อเพิ่มระดับความเร็วของสารป้อนจะสูงขึ้นขณะเดียวกันความดันในระบบก็สูงตามไปด้วย
4. เครื่องวัดอัตราการไหลแบบลูกลอย (Flow Meter) ยี่ห้อ cole parmer
5. เกจวัดความดัน (Pressure Gauge)
6. อุปกรณ์เยื่อแผ่น (Membrane Unit)
 - 6.1 Housing ผลิตจาก Stainless Steel
 - 6.2 เยื่อแผ่นมีลักษณะเป็นวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร ซึ่งเป็นเยื่อแผ่นที่ผลิตขึ้นเอง
7. วาล์วควบคุมความดัน เมื่อปิดวาล์วจะทำให้ความดันของระบบเพิ่มขึ้นแต่อัตราการไหลจะลดลง
8. ท่อรีเทนเทท
9. ท่อเพอมีเอท
10. กระบอกตวง

3.2 การเตรียมเยื่อแผ่นด้วยวิธีการเปลี่ยนเฟส

- 3.2.1 สารละลายสำหรับผลิตเยื่อแผ่น ประกอบด้วย
 - 3.2.1.1 โพลีเมอร์ : polyethersulfone (PES)
 - 3.2.1.2 ตัวทำละลาย : dimethylacetamide (DMAC)
 - 3.2.1.3 สารพองตัว : polyvinylpyrrolidone (PVP)
 - 3.2.1.4 สารตัวเติม : alumina (Al_2O_3)
- 3.2.2 ผสม PES, PVP และละลายในตัวทำละลาย DMAC ซึ่งมีส่วนประกอบดังนี้ PES 15%wt., PVP 2%wt., และ DMAC 83%wt. ตั้งสารผสมทิ้งไว้จนพองสลายไปเป็นเวลา 3 ชั่วโมง
- 3.2.3 ทำการกวนสารละลายพอลิเมอร์เป็นเวลา 6 ชั่วโมง โดยใช้ magnetic stirrer ที่ความเร็วรอบ 200 rpm ที่อุณหภูมิห้อง
- 3.2.4 ทำการคาสต์สารผสมโพลีเมอร์บนแผ่นกระจกที่มีขนาด 17 x 12.8 cm ด้วยมีดคาสต์ที่ปรับความหนาไว้ที่ 200 μm
- 3.2.5 ทำการจุ่มแผ่นกระจกลงในน้ำปราศจากไอออนที่อุณหภูมิห้องทันที เพื่อให้ฟิล์มเกิดการแข็งตัว เป็นเวลา 2 นาที

- 3.2.6 ย้ายเยื่อแผ่นที่ได้จุ่มในอ่างน้ำเป็นเวลา 1 วัน ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อเป็นการกำจัดตัวทำละลายที่ยังคงเหลืออยู่ออกจากโครงสร้างเยื่อแผ่น
- 3.2.7 ตัดเยื่อแผ่นโดยให้มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตรแล้วเก็บเยื่อแผ่นในน้ำที่ปราศจากไอออนเพื่อเตรียมนำไปทดสอบคุณลักษณะของเยื่อแผ่น

3.3 การเตรียมสารเคลือบผิวเยื่อแผ่น

3.3.1 การเคลือบสารละลาย Al_2O_3/CS บนเยื่อแผ่น PES

- 3.3.1.1 เตรียม CS ที่ความเข้มข้น 0.1-0.5 %w/v ในกรดอะซิติกเข้มข้น 2 %v/v แล้วเติม Al_2O_3 ปริมาณคงที่ที่ 0.05 g
- 3.3.1.2 นำเยื่อแผ่น PES ที่ผลิตได้ไปติดตั้งในชุดการทดลอง UF ดังรูปที่ 1 เติม Al_2O_3/CS ในถังป้อน จากนั้นเดินเครื่อง แล้วปรับความเร็วรอบของ pump ให้มีอัตราการไหลของสารป้อน 0.877 L/min ความดัน 2 bar ที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 10 นาที
- 3.3.1.3 นำเยื่อแผ่น PES ที่ผ่านการเคลือบผิวด้วย Al_2O_3/CS ไปอบที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
- 3.3.1.4 นำเยื่อแผ่น PES/ Al_2O_3/CS หลังการอบมา neutralize ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1 M เป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้ชั้น CS บนชั้นเคลือบมีสภาพเป็นกลางแล้วล้างเยื่อแผ่นด้วยน้ำกลั่น
- 3.3.1.5 ทดสอบความคงทนของเยื่อแผ่น PES/ Al_2O_3/CS ตามหัวข้อที่ 3.4.1-3.4.3 เพื่อหาความเข้มข้นของสารละลาย CS ที่เหมาะสมโดยการกรองน้ำผ่านเยื่อแผ่นเป็นเวลา 5 ชั่วโมง

3.3.2 การเคลือบสารละลาย Al_2O_3/CS บนเยื่อแผ่น โดยมีการเชื่อมขวางด้วย GA

- 3.3.2.1 ทำการเตรียมสารละลาย $Al_2O_3/CS/GA$ เพื่อเคลือบบนเยื่อแผ่น PES โดยเติม GA ความเข้มข้น 0.1 - 1.5 %w/v ลงในสารละลาย CS ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดจากผลการทดสอบความคงทนจากหัวข้อ 3.3.1.5 และใช้ Al_2O_3 0.05 g
- 3.3.2.2 ทำการเคลือบเยื่อแผ่น PES ด้วยสารละลาย $Al_2O_3/CS/GA$ ตามขั้นตอนการเคลือบดังหัวข้อที่ 3.3.1.2 - 3.3.1.4
- 3.3.2.3 ทดสอบความคงทนของเยื่อแผ่น PES/ $Al_2O_3/CS/GA$ ตามหัวข้อที่ 3.4 เพื่อหาความเข้มข้นของสารละลาย GA ที่เหมาะสมโดยการกรองน้ำผ่านเยื่อแผ่นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.4 การทดสอบความคงทนของเยื่อแผ่น

3.4.1 ศึกษาโครงสร้างของเยื่อแผ่น

นำเยื่อแผ่น PES ที่เคลือบหลังกรองน้ำผ่านไปตรวจสอบลักษณะพื้นผิวและลักษณะโครงสร้างภาพตัดขวาง ด้วยเครื่อง SEM รุ่น JSM -5410 LV โดยมีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง ดังนี้

- 3.4.1.1 นำเยื่อแผ่น PES หลังการเคลือบไปแช่ในไนโตรเจนเหลว เพื่อให้เยื่อแผ่นเกิดการแข็งตัวแล้วทำการหักเยื่อแผ่น เพื่อไม่ให้ลักษณะโครงสร้างภาพตัดขวางเกิดการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากการตัดตัวอย่าง หลังจากนั้นเตรียมนำตัวอย่างเพื่อไปส่งดูลักษณะภาพตัดขวางของเยื่อแผ่น
- 3.4.1.2 นำเยื่อแผ่นด้านผิวบนและนำเยื่อแผ่นที่หักแล้วไปติดตั้งบนถาดติดตัวอย่างโดยใช้กระดาษกาวคาร์บอน โดยหันด้านที่หักขึ้นด้านบน
- 3.4.1.3 นำถาดที่ติดตั้งเยื่อแผ่นตัวอย่างไปเคลือบทอง ต่อจากนั้นติดตั้งในเครื่อง SEM และทำการปรับกำลังขยายที่กำลังขยายต่างๆ และถ่ายรูปตัวอย่าง

3.4.2 การหาเปอร์เซ็นต์การหลุดของสารเคลือบหลังกรองน้ำผ่านเยื่อแผ่น (% loss of coating layer_{UF})

นำเยื่อแผ่น PES หลังจากการเคลือบไปติดตั้งตามรูปที่ 1 แล้วกรองน้ำผ่านด้วยอัตราการไหล 0.877 l/min และความดัน 2 bar ที่อุณหภูมิ 25 °C จากนั้นหาน้ำหนักก่อนและหลังกรอง และคำนวณหา % loss of coating layer (UF)

3.4.3 การหาเปอร์เซ็นต์การหลุดของ Al_2O_3 บนสารเคลือบหลังกรองน้ำผ่านเยื่อแผ่น (% Loss of Al_2O_3 _{UF})

นำเยื่อแผ่น PES หลังจากการเคลือบมาทดสอบหาปริมาณ Al_2O_3 ก่อนและหลังกรองน้ำผ่าน โดยใช้เครื่อง X-Ray Fluorescence Spectrometry (XRF) รุ่น SRS 3400 และคำนวณหา % Loss of Al_2O_3 _{UF}

3.4.4 การทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ดูดซึมน้ำของเยื่อแผ่น (% water absorption) และการหาเปอร์เซ็นต์การหลุดของสารเคลือบ (% Loss of coating layer) หลังแช่น้ำ

- 3.4.4.1 นำเยื่อแผ่น PES/ Al_2O_3 /CS/GA ไปชั่งน้ำหนักแห้งก่อนแช่ในน้ำ DI บันทึกผล
- 3.4.4.2 จากนั้นนำเยื่อแผ่นหลังชั่งน้ำหนักไปแช่ในน้ำ DI ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1, 3, 5 และ 7 วัน
- 3.4.4.3 นำเยื่อแผ่นเปียกหลังผ่านการแช่น้ำ DI ที่เวลา 1, 3, 5 และ 7 วัน มาชั่งด้วยกระดาษทิสชูเพื่อกำจัดน้ำบริเวณผิวนอกของเยื่อแผ่น จากนั้นนำเยื่อแผ่นไปชั่งน้ำหนัก
- 3.4.4.4 นำเยื่อแผ่นที่ชั่งน้ำหนักเปียกแล้วมาทำให้แห้ง โดยการทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 วัน จากนั้นชั่งน้ำหนักของเยื่อแผ่นแห้ง
- 3.4.4.5 นำน้ำหนักของเยื่อแผ่นที่ได้ไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การดูดซึมน้ำ (% water absorption) และเปอร์เซ็นต์การหลุดของสารเคลือบ (% Loss of coating layer) ดังสมการที่ 3.1 และ 3.2

$$\text{water absorption (\%)} = \frac{(W_{\text{wet}} - W_{\text{dry1}})}{W_{\text{dry1}}} \times 100 \quad 3.1$$

$$\% \text{ Loss of coating layer} = \frac{(W_{\text{dry1}} - W_{\text{dry2}})}{W_{\text{dry1}}} \times 100 \quad 3.2$$

เมื่อ W_{dry1} = น้ำหนักของเยื่อแผ่นแห้งก่อนแช่น้ำ DI (กรัม)
 W_{wet} = น้ำหนักของเยื่อแผ่นเปียกหลังแช่น้ำ DI (กรัม)
 W_{dry2} = น้ำหนักของเยื่อแผ่นแห้งหลังแช่น้ำ DI (กรัม)

3.4.5 การทดสอบคุณสมบัติเชิงกลของเยื่อแผ่น

นำเยื่อแผ่น PES/Al₂O₃/CS/GA ไปตัดให้มีขนาด 1x4 เซนติเมตร นำไปทดสอบหาค่า tensile strength และ % elongation at break ด้วยเครื่อง Universal Testing Machine ยี่ห้อ Lloyd รุ่น LRX โดยสภาวะที่ใช้ในการทดลองคือ speed 2.5 mm.s⁻¹, maximum load cell 50 N

3.5 การทดสอบคุณสมบัติต่างๆ ของเยื่อแผ่น

3.5.1 หาค่า molecular weight cut off (MWCO)

การเตรียมกราฟมาตรฐานของสารละลาย PEG

- 3.5.1.1 เตรียมสารละลายผสมระหว่าง PEG ที่มีน้ำหนักโมเลกุล 4, 15 และ 35 kDa ที่ความเข้มข้น 0.5 %w/v และ PEG ที่มีน้ำหนักโมเลกุล 100 และ 400 kDa ที่ความเข้มข้น 0.25 %w/v รวมความเข้มข้น PEG ทั้งหมดเป็น 2.0 %w/v
- 3.5.1.2 ปรับความเข้มข้นของสารละลาย PEG ที่เตรียมได้ ให้มีความเข้มข้น 0.125, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 %w/v ตามลำดับ
- 3.5.1.3 นำสารละลายไปวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง HPLC โดยต่อกับคอลัมน์ Polysep GPC-4000 ของบริษัท Phenomenex นำค่าที่ได้จากการวิเคราะห์มาพลอตกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของ PEG ที่น้ำหนักโมเลกุลต่างๆ กับพื้นที่ใต้กราฟ

การวิเคราะห์ค่า MWCO ของเยื่อแผ่น

- 3.5.1.4 นำเยื่อแผ่น PES/Al₂O₃/CS/GA ไปทดสอบหาค่า MWCO โดยป้อนสารละลายผสม PEG ความเข้มข้น 2.0%w/v ปริมาตร 2L ผ่านเยื่อแผ่น โดยป้อนแบบวนสารละลายกลับที่ความดัน 2 bar อุณหภูมิ 25 °C จนฟลักซ์ของสายเพอมีเอทคงที่ โดยขณะทำการทดลองต้องกวนสารตลอดเวลา
- 3.5.1.5 เก็บสารละลาย PEG ทางด้านเพอมีเอทและทางด้านป้อน แล้วนำสารละลาย PEG ทางด้านเพอมีเอทและทางด้านป้อน ไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยต่อเข้ากับคอลัมน์ Polysep GPC-4000 เพื่อใช้ในการแยกสารละลาย PEG

- 3.5.1.6 นำค่าพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย เครื่อง HPLC มาหาค่าความเข้มข้นของสารละลาย PEG ที่น้ำหนักโมเลกุลต่างๆ จากกราฟมาตรฐาน
- 3.5.1.7 นำค่าความเข้มข้นด้านเพอมีเอทและด้านป้อนที่คำนวณได้จากกราฟมาตรฐานที่ได้ไปคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การกักกัน (R) ด้วยสมการที่ 2.8
- 3.5.1.8 นำค่าการกักกันพลอตกราฟเทียบกับน้ำหนักโมเลกุลของ PEG ซึ่ง MWCO คือน้ำหนักโมเลกุลของ PEG ที่มีค่าการกักกัน 90%

3.5.2 การวัดค่ามุมสัมผัส (contact angle)

นำเยื่อแผ่น PES/Al₂O₃/CS/GA ไปวัดค่า contact angle ด้วยเครื่อง contact angle measurement ยี่ห้อ KRUSS รุ่น DSA 10 MK2

3.5.3 การวัดค่าฟลักซ์ของน้ำกลั่น

- 3.5.3.1 เติมน้ำ DI ในถังป้อนปริมาตร 1 ลิตร เดินเครื่องแล้วปรับวาล์วให้ได้อัตราการไหลของสารป้อน 0.887 l/min ปรับค่าความดันที่ 2 bar ที่อุณหภูมิ 25 °C โดยจัดอุปกรณ์ดังรูปที่ 3.1
- 3.5.3.2 วัดค่าฟลักซ์ โดยวัดปริมาตรทางด้านเพอมีเอท ทุกๆ 5 นาที หรือจนค่าฟลักซ์เข้าสู่สภาวะคงที่
- 3.5.3.3 คำนวณค่าฟลักซ์น้ำ (J_w) ของเยื่อแผ่นโดยใช้สมการ 2.1

3.5.4 การทดสอบฟาวลิง

นำเยื่อแผ่น PES/Al₂O₃/CS/GA มาวัดฟลักซ์ของสารละลายโปรตีน โดยใช้สารละลาย BSA ความเข้มข้น 1 g/l และปรับค่า pH ของสารละลายให้เท่ากับ 4.7 ซึ่งเป็นค่า Iep ของสารละลายโปรตีน BSA โดยใช้สภาวะการทดลองเช่นเดียวกับการวัดฟลักซ์น้ำ วัดฟลักซ์ของสารละลาย (J_v) และนำมาคำนวณค่าความต้านทาน (R_p) โดยใช้แบบจำลองอนุกรมความต้านทาน

- 3.5.4.1 เตรียมสารละลาย phosphate buffered saline solution [18] ซึ่งประกอบด้วย Na₂HPO₄ 0.03 M, KH₂PO₄ 0.03 M และ NaOH 0.03 M ละลายในน้ำกลั่น
- 3.5.4.2 ผสมโปรตีน BSA ความเข้มข้น 1g/l ปรับ pH สารละลายให้คงที่ 4.7 ด้วยการเติมสารละลาย NaOH 0.1 M หรือ HCl 0.1 M
- 3.5.4.3 ติดตั้งเยื่อแผ่น PES/Al₂O₃/CS/GA ในชุดการทดลอง UF แสดงดังรูป 3.1 เดินเครื่องแล้วปรับวาล์วให้ได้อัตราการไหลของสารป้อน 0.887 l/min และความดัน 2 bar ที่อุณหภูมิ 25 °C
- 3.5.4.4 จับเวลาและวัดปริมาตรของเพอมีเอททุกๆ 5 นาที เป็นเวลา 30 นาที จนกระทั่งได้ฟลักซ์ตามที่กำหนดไว้ จึงหยุดเดินเครื่องแล้วไล่น้ำออกจากระบบให้หมด
- 3.5.4.5 คำนวณค่าความต้านทานของเยื่อแผ่น (R_{pm}) ด้วยสมการที่ 2.4

- 3.5.4.6 ใส่สารละลายโปรตีน BSA ในถังป้อนแทนน้ำกลั่น เดินเครื่องเป็นเวลา 150 นาที โดยวัดปริมาตรทุก 5 นาที ใน 30 นาทีแรก หลังจากนั้นวัดปริมาตรทุก 10 นาที นำค่าฟลักซ์ที่ได้ไปคำนวณหาค่า R_t ด้วยสมการที่ 2.2
- 3.5.4.7 เก็บตัวอย่างสารละลายโปรตีนด้านเพอมีเอทและรีเทนเทท ไปวัดความเข้มข้นโปรตีนด้วยเครื่อง UV-VIS spectrophotometer ยี่ห้อ Hitachi รุ่น U-3000 ใช้ความยาวคลื่น 280 nm นำค่าความเข้มข้นที่ได้ไปคำนวณหาค่ารีเจกชันด้วยสมการที่ 2.8
- 3.5.4.8 ล้างเยื่อแผ่นด้วยการป้อนน้ำกลั่น แบบไหลผ่าน 4 L และป้อนแบบวนกลับอีก 30 นาที
- 3.5.4.9 ป้อนน้ำกลั่น วัดปริมาตรน้ำ ทุก 10 นาที เป็นเวลา 30 นาที นำไปคำนวณค่าฟลักซ์น้ำหลังจากล้างเยื่อแผ่น (J_w') หลังจากนั้นนำค่าฟลักซ์ที่ได้ไปคำนวณหาค่า $R_m + R_f$ ด้วยสมการที่ 2.5