

บทที่ 3 การดำเนินการวิจัย

3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย

3.1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ทั่วไป

- 3.1.1.1 อุปกรณ์การคาสท์เยื่อแผ่น
- 3.1.1.2 ถาดใส่น้ำ
- 3.1.1.3 Magnetic Stirrer และ Magnetic bar
- 3.1.1.4 แผ่นกระจก
- 3.1.1.5 นาฬิกาจับเวลา
- 3.1.1.6 เครื่องชั่งตวงวัด 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Precise รุ่น XT 220A
- 3.1.1.7 เครื่องวัดพีเอช (pH meter)
- 3.1.1.8 ตู้อบความร้อน
- 3.1.1.9 กล่องพลาสติกเก็บเยื่อแผ่น
- 3.1.1.10 UV-VIS Spectrophotometer (Hitachi model U-3000, Japan)
- 3.1.1.11 เครื่อง (High-Performance Liquid Chromatography, HPLC) บริษัท Waters-model 2414
- 3.1.1.12 เครื่อง Scanning Electron Microscope, SEM
- 3.1.1.13 เครื่อง Contact angle meter
- 3.1.1.14 เครื่อง Universal Testing Machine

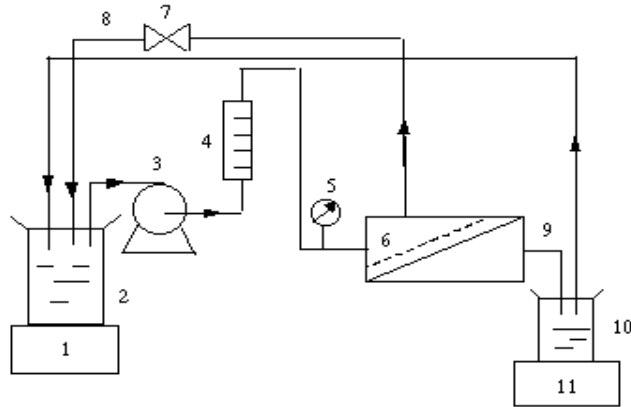
3.1.2 สารเคมี

- 3.1.2.1 น้ำปราศจากไอออน (Deionized Water)
- 3.1.2.2 โพลีเอเธอร์ polyethersulfone (PES), Udel A-100
- 3.1.2.3 โพลีเอเธอร์ Polyvinyl alcohol (PVA) Mw 77000-82000, ผลิตโดย บริษัท Aldrich
- 3.1.2.4 สารละลาย n-Methyl-2-pyrrolidone (NMP) ผลิตโดย บริษัท Fluka
- 3.1.2.5 กลูตารัลดีไฮด์ (Glutaraldehyde, GA) 25 vol%, Merck
- 3.1.2.6 Polyvinylpyrrolidone (PVP) MW 40,000 Merck
- 3.1.2.7 Polyethylene glycol (PEG), MW 4000 , Fluka
- 3.1.2.8 Polyethylene glycol (PEG), MW 15000 , Merck
- 3.1.2.9 Polyethylene glycol (PEG), MW 35000 , Fluka
- 3.1.2.10 Polyethylene glycol (PEG), MW 100000 , Serva

- 3.1.2.11 Polyethylene glycol (PEG), MW 400000 , Serva
- 3.1.2.12 Bovine serum albumin (BSA), Fluka
- 3.1.2.13 Di-Sodium hydrogen orthophosphate anhydrous (Na_2HPO_4), BDH
- 3.1.2.14 Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4), Merck
- 3.1.2.15 Sodium hydroxide anhydrous (NaOH), Carlo erba

3.1.3 อุปกรณ์อัลตราฟิลเตรชัน

เป็นระบบอัลตราฟิลเตรชันที่มีลักษณะการไหลของสารละลายป้อนแบบขวาง โดยสารละลายป้อนจะไหลในทิศทางที่ขนานกับผิวหน้าของเยื่อแผ่น แผ่นผังการจัดอุปกรณ์ แสดงดังรูปที่ 3.1 มีลักษณะการทำงานดังนี้คือ ป้อน (3) ป้อนสารจากถังป้อน (2) ที่มีการควบคุมเวลา ผ่านเครื่องวัดอัตราการไหล (4) และเกจวัดความดัน (5) เข้าสู่หน่วยของเยื่อแผ่น (6) รีเทนเททจะไหลผ่านวาล์วควบคุมความดัน (7) กลับสู่ถังป้อนทางท่อ รีเทนเทท (8) เพอมิเอทที่ผ่านเยื่อแผ่นจะไหลออกทางท่อเพอมิเอท (9) และเข้าสู่ที่บรรจุเพอมิเอท (10) แล้วอ่านปริมาตร (11) แล้วนำกลับสู่ถังป้อนเพื่อควบคุมความเข้มข้นของสารละลายให้คงที่ ในการปรับความดันและอัตราไหลของสารละลายทำได้โดยการปรับวาล์วควบคุมความดัน (7) และปรับปุ่มความเร็วของปั๊มพร้อมๆกัน รายละเอียดของแต่ละส่วนเป็นดังนี้



รูปที่ 3.1 อุปกรณ์อัลตราฟิลเตรชัน

รายละเอียดแต่ละส่วนของอุปกรณ์อัลตราฟิลเตรชัน

1. เครื่องกวนสาร
2. ถังป้อน (Feed tank) มีขนาดบรรจุประมาณ 1 ลิตร
3. ปั๊ม (Pump)
4. เครื่องวัดอัตราการไหลแบบลูกกลอย (Flow meter), Cole-Parmer
5. เกจวัดความดัน (Pressure Gauge)
6. เยื่อแผ่น (Membrane)

7. วาล์วควบคุมความดัน เมื่อปิดวาล์วจะทำให้ความดันของระบบเพิ่มขึ้น แต่อัตราการไหลจะลดลง
8. ท่อรีเทนเทท
9. ท่อเพอมีเอท
10. กระจบอทดวง

3.2 วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.2.1 การเตรียมเยื่อแผ่น

3.2.1.1 วิธีผสม PES กับ PVA ในขั้นตอนการเปลี่ยนเฟส (วิธีผสม)

เตรียมสารละลายโพลิเมอร์ส่วนที่ 1 โดยผสม PES และ PVP ในตัวทำละลาย NMP ปริมาตร 30 ml ซึ่งมีส่วนประกอบแสดงในตารางที่ 3.1 หลังจากนั้นกวนสารละลายโพลิเมอร์ด้วย Magnetic stirrer ที่ความเร็วรอบ 250 rpm เป็นเวลา 5 h ที่อุณหภูมิห้อง (25 ± 1 °C) เพื่อให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน เตรียมสารละลายโพลิเมอร์ส่วนที่ 2 โดยนำ PVA สกัดส่วนตามตารางที่ 1 ละลายในตัวทำละลาย NMP ที่อุณหภูมิ 105 °C กวนเป็นเวลา 50 min ตั้งสารละลายทิ้งไว้ 10 min เติม GA ในสารละลายส่วนที่ 2 กวนสารละลายเป็นเวลา 30 min จนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นนำไปผสมกับสารละลายโพลิเมอร์ในส่วนที่ 1 กวนสารละลายที่อุณหภูมิห้อง (25 ± 1 °C) เป็นเวลา 5 h จนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ตั้งสารละลายโพลิเมอร์ทิ้งไว้เพื่อให้ฟองสลายไปเป็นเวลา 3 h ทำการคาสต์สารละลายลงบนแผ่นกระจกขนาด 15×18 cm² ด้วยมีดคาสต์ที่ปรับความหนาไว้ 200 μ m จากนั้นจุ่มเยื่อแผ่นพร้อมแผ่นกระจกลงในอ่างน้ำปราศจากไอออน (DI) ทันที การจุ่มในอ่างแรกนี้ใช้เวลา 2 min หลังจากนั้นย้ายเยื่อแผ่นไปแช่ในน้ำ DI อ่างที่สองเป็นเวลา 24 h เก็บเยื่อแผ่นในน้ำ DI เพื่อเตรียมนำไปทดสอบคุณสมบัติ

ตารางที่ 3.1 ส่วนประกอบของสารละลายโพลิเมอร์

สัญลักษณ์เยื่อแผ่น โพลิเมอร์ผสม	สารละลายโพลิเมอร์ส่วนที่ 1			สารละลายโพลิเมอร์ส่วนที่ 2		
	PES (%wt)	PVP (%wt)	NMP (%wt)	PVA (%wt)	GA (%wt)	NMP (%wt)
PES14	14.0	2	84.0	0	0	0
PES14+PVA0.5	14.0	2	82.5	0.5	1	82.5
PES14+PVA1.0	14.0	2	82.0	1	1	82.0
PES14+PVA1.5	14.0	2	81.5	1.5	1	81.5

3.2.1.2 วิธีเคลือบผิวเยื่อแผ่น PES ด้วย PVA (วิธีเคลือบ)

เตรียมเยื่อแผ่น PES14 (ไม่ได้ผสม PVA) ตามหัวข้อ 3.2.1.1 จากนั้นจัดอุปกรณ์ตามรูปที่ 3.1 เตรียมสารละลาย PVA เข้มข้น 0.01, 0.03, 0.05 และ 0.10 %wt ปริมาตร 1 L โดยเติมสารเชื่อมขวาง GA 0.1 %vol ในทุกความเข้มข้นของ PVA ในน้ำร้อนอุณหภูมิ 60 °C กวนสารละลายด้วย Magnetic stirrer เป็นเวลา 20 min ความเร็วรอบ 300 rpm จนได้สารละลายที่เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นกรองสารละลาย PVA เข้มข้น 0.01, 0.03, 0.05 และ 0.10 %wt ผ่านเยื่อแผ่น PES14 โดยใช้ความดัน 2 bar อัตราการไหล 0.877 L/min เป็นเวลา 10 min หลังจากนั้นนำเยื่อแผ่นที่ผ่านการเคลือบผิวด้วย PVA และเชื่อมขวางด้วย GA ไปอบที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 60 min เพื่อให้เยื่อแผ่นแห้ง

3.2.1.3 วิธีเคลือบผิวเยื่อแผ่นโพลีเมอร์ผสม PES+ PVA ด้วย PVA (วิธีเคลือบ/ผสม โดยศึกษาผลความเข้มข้นของ PVA ในขั้นตอนผสม)

เตรียมเยื่อแผ่น PES14, PES14+PVA0.5, PES14+PVA1.0 และ PES14+PVA1.5 ตามหัวข้อ 3.2.1.1 จากนั้นนำสารละลาย PVA เข้มข้น 0.01 g/L โดยเติมสารเชื่อมขวาง GA 0.1 %vol มากกรองผ่านเยื่อแผ่นดังกล่าว โดยใช้ความดัน 2 bar อัตราการไหล 0.877 L/min เป็นเวลา 10 min หลังจากนั้นนำเยื่อแผ่นที่ผ่านการเคลือบผิวด้วย PVA และเชื่อมขวางด้วย GA ไปอบที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 45 min เพื่อให้เยื่อแผ่นแห้ง

3.2.1.4 วิธีเคลือบผิวเยื่อแผ่นโพลีเมอร์ผสม PES+PVA ด้วย PVA (วิธีเคลือบ/ผสม ศึกษาผลความเข้มข้นของ PVA ในขั้นตอนเคลือบผิวเยื่อแผ่น)

เตรียมเยื่อแผ่น PES14+PVA1.0 ตามหัวข้อ 3.2.1.1 จากนั้นนำสารละลาย PVA เข้มข้น 0.01, 0.03, 0.05 และ 0.1 %wt มากกรองผ่านเยื่อแผ่นดังกล่าว โดยใช้ความดัน 2 bar อัตราการไหล 0.877 L/min เป็นเวลา 10 min หลังจากนั้นนำเยื่อแผ่นที่ผ่านการเคลือบผิวด้วย PVA และเชื่อมขวางด้วย GA ไปอบที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 60 min เพื่อให้เยื่อแผ่นแห้ง

ตารางที่ 3.2 สัญลักษณ์ของเยื่อแผ่นที่ทำการศึกษา

วิธีผสม	วิธีเคลือบ	วิธีผสม/เคลือบ	
ศึกษาความเข้มข้นของ PVA ที่นำมาผสม	ศึกษาความเข้มข้นของ PVA ที่นำมาเคลือบ	ศึกษาความเข้มข้นของ PVA ในขั้นตอนผสม	ศึกษาความเข้มข้นของ PVA ในขั้นตอนเคลือบ
PES14	PES14/PVA0.01	PES14/PVA0.01	PES14+PVA1.0/PVA0.01
PES14+PVA0.5	PES14/PVA0.03	PES14+PVA0.5/PVA0.01	PES14+PVA1.0/PVA0.03
PES14+PVA1.0	PES14/PVA0.05	PES14+PVA1.0/PVA0.01	PES14+PVA1.0/PVA0.05
PES14+PVA1.5	PES14/PVA0.1	PES14+PVA1.5/PVA0.01	PES14+PVA1.0/PVA0.1

3.3 การทดสอบคุณสมบัติเยื่อแผ่น

3.3.1 การตรวจสอบโครงสร้างรูพรุนของเยื่อแผ่นด้วยเครื่อง SEM

- 3.3.1.1 นำเยื่อแผ่นทั้งหมดที่เตรียมได้ไปตรวจสอบลักษณะพื้นผิวและลักษณะโครงสร้างภาพตัดขวางของเยื่อแผ่น ด้วยเครื่อง Scanning Electron Microscope (SEM)
- 3.3.1.2 นำผลที่ได้จากการตรวจสอบด้วยเครื่อง SEM ของเยื่อแผ่นแต่ละชั้นมาเปรียบเทียบกัน

3.3.2 การหาค่า Molecular Weight cut off (MWCO)

3.3.2.1 การเตรียมกราฟมาตรฐานของสารละลาย Polyethylene glycol (PEG)

- ก. เตรียมสารละลายผสมระหว่าง PEG ที่มีน้ำหนักโมเลกุล 4, 15 และ 35 kDa ที่ความเข้มข้นของแต่ละสาร 0.5 %w/v และขนาด 100 และ 400 kDa ที่ความเข้มข้นละ 0.25 %w/v (ความเข้มข้นของ PEG รวม 2 %w/v)
- ข. ปรับความเข้มข้นของสารละลาย PEG ที่เตรียมได้ ให้มีความเข้มข้น 0.125, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 %w/v ตามลำดับ
- ค. นำสารละลายไปวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง HPLC ยี่ห้อ Water 2414 ต่อกับคอลัมน์ Polysep GPC-4000 ของบริษัท Phenomenex นำค่าที่ได้จากการวิเคราะห์มาพลอตกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของ PEG ที่น้ำหนักโมเลกุลต่างๆ เทียบกับพื้นที่ใต้กราฟ

3.3.2.2 การวิเคราะห์ค่า MWCO ของเยื่อแผ่น

- ก. นำเยื่อแผ่นทั้งหมดที่เตรียมได้ไปทดสอบหาค่า MWCO โดยผสมสารละลาย PEG ความเข้มข้น 2.0 %wt ปริมาตร 2 L กรองผ่านเยื่อแผ่น โดยป้อนแบบวนกลับที่ความดัน 2 bar อุณหภูมิ 25°C จนค่าฟลักซ์ของสายเพอมีเอทลงที่ โดยขณะทำการทดลองต้องกวนสารตลอดเวลา
- ข. เก็บสารละลาย PEG ทางด้านเพอมีเอทและทางสายป้อน ไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC
- ค. นำค่าพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC มาหาความเข้มข้นของสารละลาย PEG ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่างๆ จากกราฟมาตรฐาน
- ง. นำค่าความเข้มข้นด้านเพอมีเอทและทางสายป้อนที่คำนวณได้จากกราฟมาตรฐาน ไปคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การกักกัน (R) ด้วยสมการที่ 2.8
- จ. นำค่าการกักกันพลอตกราฟเทียบกับน้ำหนักโมเลกุลของ PEG ซึ่ง MWCO คือน้ำหนักโมเลกุลของ PEG ที่มีค่าการกักกัน 90%

3.3.3 การวัดค่ามุมสัมผัส (Contact angle)

- 3.3.3.1 นำเยื่อแผ่นทั้งหมดที่เตรียมได้มาตรวจสอบค่ามุมสัมผัสด้วยเครื่อง Contact angle measurement
- 3.3.3.2 นำผลที่ได้จากการตรวจสอบด้วยเครื่อง Contact angle measurement ของเยื่อแผ่นแต่ละชิ้นมาเปรียบเทียบกัน

3.3.4 การวัดค่าฟลักซ์ของน้ำกลั่น

- 3.3.4.1 นำเยื่อแผ่นทั้งหมดที่เตรียมได้ไปติดตั้งในชุดการทดลองอัลตราฟิลเตรชันดังรูปที่ 3.1 เดิม น้ำในถังป้อนปริมาตร 1 L เดินเครื่อง แล้วปรับวาล์วให้ได้อัตราการไหลของสารป้อน 0.877 L/min
- 3.3.4.2 ตั้งค่าความดัน 2 bar วัดค่าฟลักซ์ด้านเพอมิเอท (โดยวัดปริมาตร/เวลา) ทุก 5 min บันทึกผลจนค่าฟลักซ์เข้าสู่สภาวะคงที่
- 3.3.4.3 วัดค่าฟลักซ์น้ำ โดยการนำปริมาตรน้ำที่กรองผ่านเยื่อแผ่นมาหารด้วยพื้นที่หน้าตัดของเยื่อแผ่น และเวลาที่ใช้ในการกรองน้ำผ่านเยื่อแผ่น
- 3.3.4.4 นำค่าฟลักซ์น้ำ (J_w) มาคำนวณหาความต้านทานของเยื่อแผ่น (R_m) โดยใช้สมการ (2.1)

3.3.5 ทดสอบสมบัติเชิงกลของเยื่อแผ่น (Mechanical Tests)

นำเยื่อแผ่นที่เตรียมได้ทั้งหมดมาทดสอบสมบัติเชิงกลด้วยเครื่อง Universal Testing Machine ยี่ห้อ Lloyd รุ่น LRX โดยสภาวะที่ใช้ในการทดสอบคือ Speed 2.54 mm.s⁻¹ และ Maximum load cell 50 N

3.3.6 การทดสอบความคงทนของเยื่อแผ่น

- 3.3.6.1 นำเยื่อแผ่นที่เตรียมได้ทั้งหมดมาทดสอบความคงทน โดยการกรองน้ำ DI ผ่านเยื่อแผ่นในกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน ภายใต้ความดัน 2 bar, อัตราการไหล 0.877 L/min ที่อุณหภูมิห้อง (25°C) เป็นเวลา 20 h หลังจากนั้นวัดอัตราการไหลด้านเพอมิเอท โดยจับเวลาทุกๆ 30 min จนกระทั่งฟลักซ์เข้าสู่สภาวะคงตัว บันทึกผล
- 3.3.6.2 นำเยื่อแผ่นก่อนและหลังการทดสอบไปชั่งน้ำหนักของเยื่อแผ่นเพื่อดูปริมาณการหลุดออกของ PVA (% PVA Loss_{UF}) ในเยื่อแผ่นและที่เคลือบผิวเยื่อแผ่น

3.3.7 ทดสอบการดูดซึมน้ำของเยื่อแผ่น (Water absorption) และการหลุดของ PVA (PVA Loss, %wt)

เพื่อทดสอบการดูดซึมน้ำของเยื่อแผ่นและการหลุดของ PVA ที่ผสมและเคลือบผิวเยื่อแผ่น ทดสอบโดยการนำเยื่อแผ่นที่เตรียมได้ทั้งหมดมาแช่ในน้ำ DI ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1, 3, 5, 7 วัน ตามลำดับ โดยชั่งน้ำหนักเยื่อแผ่นก่อนและหลังการแช่น้ำ แล้วคำนวณหาค่า Water absorption และการหลุดออกของ PVA เนื่องจากการดูดซึมน้ำ (PVA Loss %wt) ตามสมการที่ 3.1 และ 3.2 ตามลำดับ

$$\text{Water absorption (\%)} = \frac{W_{Wet} - W_{Dry1}}{W_{Dry1}} \times 100 \quad 3.1$$

$$\text{PVA Loss (\%wt)} = \frac{W_{Dry1} - W_{Dry2}}{W_{Dry1}} \times 100 \quad 3.2$$

เมื่อ	W_{Dry1}	=	น้ำหนักของเยื่อแผ่นแห้งก่อนแช่ในน้ำ DI (กรัม)
	W_{wet}	=	น้ำหนักของเยื่อแผ่นเปียกหลังแช่ในน้ำ DI (กรัม)
	W_{Dry2}	=	น้ำหนักของเยื่อแผ่นแห้งหลังแช่ในน้ำ DI (กรัม)

3.3.8 การทดสอบฟาวลิง

- 3.3.8.1 เตรียมสารละลายโปรตีน Bovine serum albumin (BSA) 1 g/L ในสารละลาย Phosphate buffer saline
- 3.3.8.2 ปรับค่า pH ของสารละลายในข้อ 3.3.8.1 ให้คงที่ 4.7 ด้วยการเติมสารละลาย NaOH 0.1 M หรือ HCl 0.1 M
- 3.3.8.3 ติดตั้งเยื่อแผ่นในชุดการทดลองคังรูปที่ 1 ป้อนสารละลายโปรตีนแบบวนกลับ (โดยใช้สภาวะการทดลองเดียวกับการทดสอบความคงทนของเยื่อแผ่น) เป็นเวลา 150 min โดยวัดปริมาตรทุก 5 min ในช่วง 30 นาทีแรก หลังจากนั้นวัดปริมาตรทุก 10 min นำปริมาตรที่วัดได้ไปคำนวณหาค่า ฟลักซ์สารละลายโปรตีน (J_v) หลังจากนั้นนำค่าฟลักซ์ที่ได้ไปคำนวณหาค่า R_f ด้วยสมการที่ 2.3
- 3.3.8.4 เก็บตัวอย่างด้านเพอมีอิตและรีเทนเททไปวิเคราะห์ความเข้มข้นของโปรตีนโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer ยี่ห้อ Hitachi โมเดล U-3000 ใช้ความยาวคลื่น 280 nm นำค่าความเข้มข้นที่ได้ไปคำนวณหาค่าการกักกันด้วยสมการที่ 2.8
- 3.3.8.5 ทำการล้างเยื่อแผ่นด้วยน้ำ DI ปริมาตร 4 L โดยป้อนน้ำแบบไม่วนกลับถึงป้อนจนน้ำหมด หลังจากนั้นป้อนแบบวนกลับถึงป้อนเป็นเวลา 30 min

- 3.3.8.6 ป้อนน้ำ DI วัดปริมาณน้ำ ทุก 10 min เป็นเวลา 30 min นำไปคำนวณค่าฟลักซ์น้ำหลังจาก
ล้างเยื่อแผ่น (J_w) หลังจากนั้นนำค่าฟลักซ์ที่ได้ไปคำนวณค่า $R_m + R_f$ ด้วยสมการที่ 2.5