

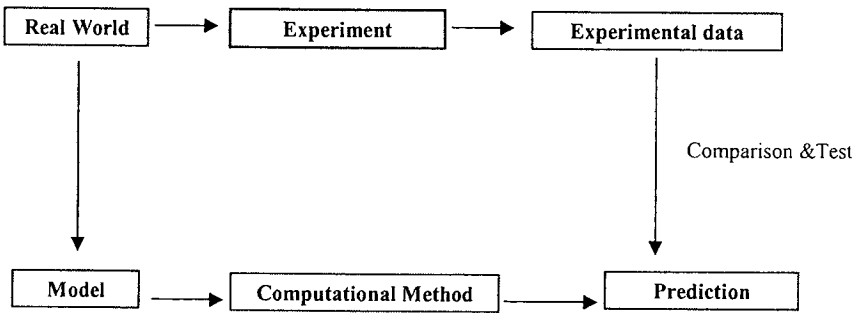
บทที่ 3
วิธีการดำเนินการวิจัย

วิธีการดำเนินการวิจัย แบ่งเป็น 3 ขั้นตอน ดังนี้

ตอนที่ 1 การศึกษาทางคอมพิวเตอร์

- 1. เตรียมอุปกรณ์ เครื่องคอมพิวเตอร์และโปรแกรมสำเร็จรูปทางเคมีคอมพิวเตอร์ เช่น Guassian 2003, HyperChem และ Origin เป็นต้น
- 2. สร้าง input file ของสารต่างๆ ในระบบการดูดซับไอออนทองแดงที่สามารถละลายน้ำได้บนโครงสร้างของสารที่พบในเปลือกมังคุด คือ α -mangostin, β -mangostin และ γ -mangostin
- 3. ทำการศึกษาเพื่อเลือกวิธีการคำนวณทางเคมีคอมพิวเตอร์ ที่ระดับการคำนวณต่างๆ
- 4. ทำการคำนวณโครงสร้างของระบบที่ศึกษาที่มีระดับพลังงานเสถียรที่สุด
- 5. วิเคราะห์ข้อมูล และคุณสมบัติต่างๆ ทางเคมีเพื่อดูความน่าจะเป็นของการดูดซับไอออนทองแดงบนโครงสร้างของสารจากเปลือกมังคุด กลุ่ม mangostin

วิเคราะห์และเปรียบเทียบผล



การวิเคราะห์ข้อมูล และคุณสมบัติต่างๆ ของโครงสร้างที่ได้จากการคำนวณจะถูกนำมาวิเคราะห์ถึงความเป็นไปได้ในการเกิดการดูดซับระหว่างโครงสร้างของตัวดูดซับ (mangostin) และตัวถูกดูดซับ (ทองแดงรูปแบบชนิดต่างๆ) โดยพิจารณาความยาวพันธะ และมุม ที่เปลี่ยนแปลงไปร่วมกับการพิจารณาพลังงาน การคำนวณพลังงานของระบบทำได้โดยใช้สมการ

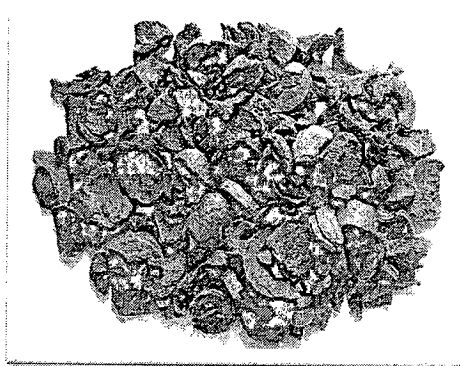
$$\text{พลังงานของระบบ} = \text{พลังงานของผลิตภัณฑ์} - \text{พลังงานของสารตั้งต้น}$$

และวิเคราะห์ผลที่ได้จากการคำนวณ (ค่าพลังงานการดูดซับ) เพื่อตรวจสอบความน่าจะเป็นไปได้
ของความสามารถของการดูดซับไอออนทองแดงด้วยสารเมงโกสติน หรือการทำนายผลว่าเราควร
จะทำการศึกษาในทางการปฏิบัติหรือไม่ หรือว่ามีข้อผิดพลาดเกิดขึ้นหรือไม่

ตอนที่ 2 การสกัดสาร และการแยกสารสกัด α -mangostin, β -mangostin และ γ -mangostin

1. การเตรียมพืชตัวอย่าง

- นำเปลือกมังคุดสดเก็บจาก อำเภอป่าพะยอม จังหวัดพัทลุง มาหั่นให้เป็นชิ้นเล็กๆ ผึ่งลม
ไว้จนแห้งพอสมควร หลังจากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 60°C จนน้ำหนักคงที่

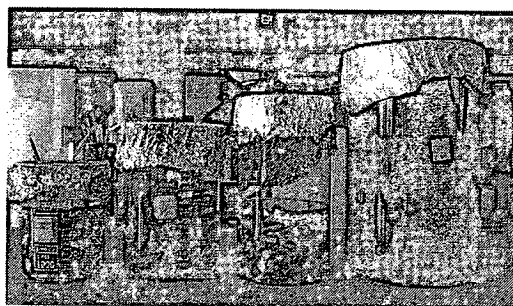


ภาพที่ 2 แสดงลักษณะเปลือกมังคุดชิ้นเล็กๆ ก่อนนำไปบด

- นำเปลือกมังคุดที่แห้งแล้วมาบดให้ละเอียด เก็บไว้เพื่อสกัดสารต่อไป

2. การสกัดสาร

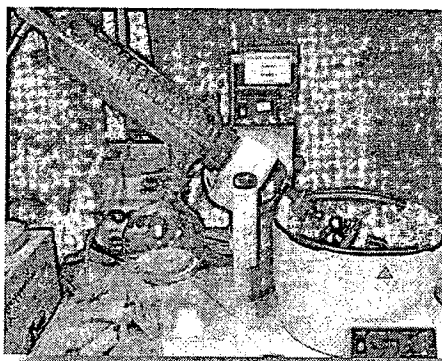
- นำเปลือกมังคุดที่บดละเอียดจากข้อ 1 น้ำหนัก 1 กิโลกรัม มาสกัดด้วยเมทานอล ด้วยวิธี
maceration แช่ทิ้งไว้ 3 วัน เขย่าสารละลายเป็นครั้งคราว กรองสารละลายด้วยกระดาษกรอง



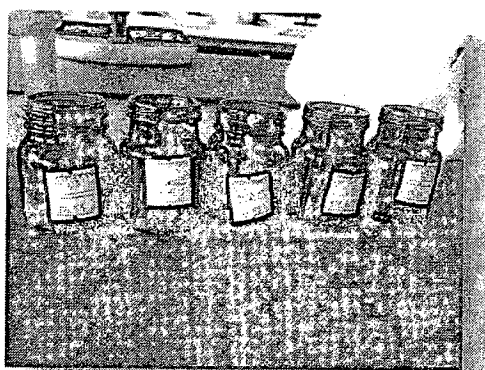
ภาพที่ 3 แสดงการสกัดสารแบบ maceration

- แช่ด้วยเมทานอลซ้ำอีก 1 ครั้ง นำสารละลายที่ได้รวมกับสารละลายที่แช่ครั้งแรก

- ระเหยตัวทำละลายเมทานอลออกจากสารสกัดด้วยวิธีระเหยแบบลดความดันใช้เครื่อง rotary evaporator จะได้สารสกัดหยาบเมทานอลของเปลือกมังคุด



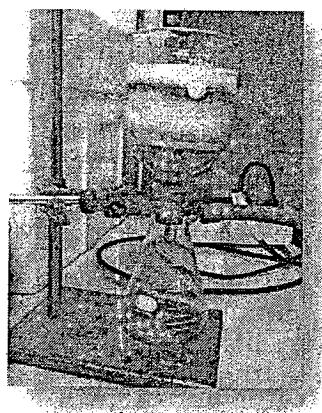
ภาพที่ 4 การระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง rotary evaporator



ภาพที่ 5 สารสกัดหยาบเมทานอลของเปลือกมังคุด

- เก็บสารสกัดหยาบไว้ในตู้เย็นก่อนการทดลองในขั้นต่อไป
3. การแยกสารสกัดหยาบให้เป็นส่วนย่อย
- ชั่งสารสกัดหยาบเมทานอลมา 10 กรัม ผสมกับซิลิกาเจลแล้วนำมาบดจนสารสกัดหยาบ
 - ผสมกับซิลิกาเจลเป็นผง

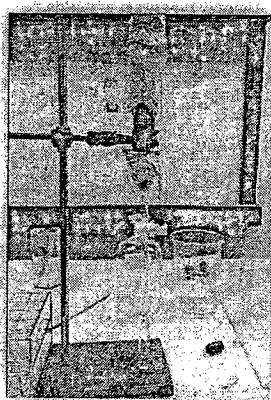
- บรรจุซิลิกาเจลลงในคอลัมน์แบบรวดเร็ว (quick column chromatography) บรรจุสารสกัดหยาบที่ผสมกับซิลิกาเจลลงไปบนส่วนบนสุดของซิลิกาเจลในคอลัมน์
- จะด้วยตัวทำละลายจากขั้วต่ำไปสูง เริ่มจาก 100% ไดคลอโรมีเทน เพิ่มขั้วด้วยเมทานอลครั้งละ 5 เปอร์เซ็นต์ จนถึง 100% เมทานอล โดยตัวทำละลายแต่ละความเข้มข้นใช้ปริมาตร 300 มิลลิลิตร



ภาพที่ 6 การแยกสารสกัดหยาบ ด้วยคอลัมน์แบบรวดเร็ว

- เก็บสารละลายที่ได้จากคอลัมน์แยกเป็นส่วนๆ ตามความเข้มข้นของตัวทำละลายที่ใช้ จะ ได้สารทั้งหมด 21 ส่วน
 - นำสารละลายที่ได้ทั้ง 21 ส่วนไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator จะได้สารสกัดย่อย 21 ส่วน
4. การแยกส่วนย่อยให้ได้เมงโกสตินบริสุทธิ์
- นำส่วนย่อยแต่ละส่วนมาตรวจสอบองค์ประกอบด้วยโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบาง (Thin Layer Chromatography, TLC) นำส่วนที่มีลักษณะ โครมาโทแกรมเหมือนกันมารวมกัน จะได้ส่วนย่อยหลังจากที่รวมแล้วเป็น 7 ส่วน (ส่วนย่อย 1-ส่วนย่อย 7)
 - นำส่วนย่อยแต่ละส่วนมาตรวจสอบด้วยโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบางโดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานเมงโกสติน ใช้เฟสเคลื่อนที่ 2% เมทานอลในไดคลอโรมีเทน พบว่า β -mangostin, α -mangostin และ γ -mangostin เป็นองค์ประกอบอยู่ในส่วนย่อยที่ 2, 3 และ 5 ตามลำดับ
 - นำส่วนย่อย 2 มาแยก β - mangostin โดยวิธีคอลัมน์แบบธรรมดา ดังนี้

- นำซิลิกาเจลมาผสมกับตัวทำละลาย 2% เมทานอล เทลงในคอลัมน์แก้ว แก้วขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร สูง 20 เซนติเมตร จนได้ความสูงของซิลิกาเจลประมาณครึ่งคอลัมน์ ไซสารละลายให้อยู่ระดับเสมอกับซิลิกาเจล
- นำส่วนย่อย 2 มาละลายด้วย 2% เมทานอลปริมาตรเล็กน้อยพอที่จะละลายสารได้ทั้งหมด หยดสารละลายลงไปในผิวหน้าของซิลิกาเจล (ระวังอย่าให้กระทบกระเทือนผิวหน้าซิลิกาเจล) ไซสารสักัดลงไปให้ดูดซับอยู่กับซิลิกาเจล ค่อยๆเติมตัวทำละลาย 2% เมทานอลลงในคอลัมน์ช้าๆ เปิดก๊อกคอลัมน์ให้ตัวทำละลายไหลลงในภาชนะรองรับชะคอลัมน์ด้วยตัวทำละลายเดิมไปเรื่อยๆ รับสารละลายที่ออกจากคอลัมน์ครั้งละ 40 มิลลิลิตร รองรับสารละลายออกจากคอลัมน์ได้ทั้งหมด 50 ส่วน ตรวจสอบสารสารแต่ละส่วนด้วยโครมาโทกราฟีแผ่นบางเปรียบเทียบกับ β - mangostin มาตรฐาน เพื่อหาส่วนย่อยที่มี β - mangostin บริสุทธิ์ นำส่วนที่มี β - mangostin มาแยกด้วยโครมาโทกราฟีแผ่นหนา จะได้ β - mangostin บริสุทธิ์
- นำส่วนย่อย 3 มาแยกเพื่อให้ได้สาร α - mangostin ที่บริสุทธิ์โดยใช้วิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา ใช้เฟสเคลื่อนที่และเฟสอยู่กับที่ เหมือนกับการแยกในส่วนย่อย 2 ได้ส่วนย่อยทั้งหมด 48 ส่วน รวมส่วนที่มีลักษณะโครมาโทแกรมเหมือนกันเข้าด้วยกันจะได้ทั้งหมด 11 ส่วน คือส่วน 3.1-3.11 เมื่อวางสารในแต่ละส่วนทิ้งไว้จะมีส่วนที่ 3.6 และ 3.7 ตกผลึกได้เป็นของแข็งสีเหลือง เมื่อนำมาตรวจสอบบน TLC เปรียบเทียบกับ α - mangostin มาตรฐานพบว่า เป็น α - mangostin
- นำส่วนย่อย 5 มาแยกเพื่อให้ได้ γ -mangostin บริสุทธิ์โดยใช้วิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา ใช้เฟสเคลื่อนที่คือ 5% เมทานอลในไดคลอโรมีเทน และเฟสอยู่กับที่คือซิลิกาเจล ได้ส่วนย่อยทั้งหมด 56 ส่วน รวมส่วนที่มีลักษณะโครมาโทแกรมเหมือนกันเข้าด้วยกันจะได้ทั้งหมด 9 ส่วน คือส่วน 5.1-5.9 นำส่วน เมื่อนำมาตรวจสอบบน TLC เปรียบเทียบกับ γ -mangostin มาตรฐาน เพื่อหาส่วนย่อยที่มี χ -mangostin บริสุทธิ์ นำส่วนที่มี γ -mangostin มาแยกด้วยโครมาโทกราฟีแผ่นหนา จะได้ γ -mangostin บริสุทธิ์



ภาพที่ 7 แสดงการแยกสารด้วยวิธีคอลัมน์ธรรมดา

5. การยืนยันโครงสร้างของสารบริสุทธิ์

วิเคราะห์โครงสร้างเพื่อยืนยันชนิดของสารแมงโกสตินด้วยเทคนิค TLC โดยการนำสารสกัดที่ได้ ไปตรวจเช็คบนแผ่น TLC เดียวกันกับแมงโกสตินมาตรฐาน ถ้าสารสกัดมีลักษณะโครมาโทแกรมเหมือนกับสารมาตรฐานแมงโกสติน แสดงว่าเป็นสารเดียวกัน

ตอนที่ 3 ศึกษาประสิทธิภาพการดูดซับไอออนทองแดงในน้ำเสียสังเคราะห์ ด้วยเปลือกมังคุด

1. การเตรียมวัสดุดูดซับ

การเตรียมเปลือกมังคุด

1.1 นำเปลือกมังคุดมาล้างให้สะอาด และทำให้เป็นชิ้นเล็กๆ แล้วนำไปตากแดด ประมาณ 1 สัปดาห์

1.2 ทำการร่อนด้วยตะแกรงร่อนขนาด 80 เมช แล้วนำเก็บในโถสุญญากาศขึ้น เพื่อทำการวิเคราะห์ต่อไป

2. การวิเคราะห์ค่าการดูดซับไอโอดีน

โดยทำการวิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐาน ASTM D 4907-94 ทำการวิเคราะห์ค่าการดูดซับไอโอดีนของวัสดุดูดซับ

3. ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการดูดซับ

ศึกษาปริมาณของวัสดุดูดซับ

- เติมน้ำละลายทองแดง ที่มีความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

- เติมวัสดุดูดซับ ปริมาณ 0.50, 1.00, 1.50, 2.00, 2.50 และ 3.00 กรัม ลงในขวดแต่ละใบ เขย่าเป็นเวลา 5 นาที และตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 120 นาที
- กรองวัสดุดูดซับทั้งสามชนิด ด้วยกระดาษเบอร์ 42
- วิเคราะห์หาปริมาณไอออนทองแดง ที่เหลือหลังการดูดซับ ด้วยเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทร-มิเตอร์

ศึกษาปัจจัยเวลาของการดูดซับ

- เติมสารละลายทองแดง ที่มีความเข้มข้น 5 ppm ลงในขวดรูปชมพูนขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
- เติมวัสดุดูดซับทั้งสามชนิด ปริมาณที่เหมาะสม ลงในขวดแต่ละใบ ทำการเขย่าเป็นเวลา 5 นาที
- ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110 และ 120 นาที
- กรองวัสดุดูดซับทั้งสามชนิด ด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42
- วิเคราะห์หาปริมาณไอออนตะกั่ว ไอออนทองแดงชนิดเดียวและสารละลายผสมของ ไอออนตะกั่วและทองแดงที่เหลือหลังการดูดซับ ด้วยเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรมิเตอร์

4. ศึกษาไอโซเทอร์มของการดูดซับไอออนทองแดงในน้ำเสียสังเคราะห์

- เติมสารละลายทองแดง ที่มีความเข้มข้น 5, 7, 10, 20, 30, 40, 50, 60 และ 70 มิลลิกรัม ต่อลิตร ลงในขวดรูปชมพูนขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
- ใส่ปริมาณที่เหมาะสมของวัสดุดูดซับ (จากผลการทดลองปริมาณที่เหมาะสม) ลงในขวดแต่ละใบ เขย่าเป็นเวลา 5 นาที
- ตั้งทิ้งไว้ที่เวลาที่เหมาะสม (จากผลการทดลองเวลาที่เหมาะสม) ในการดูดซับไอออนทองแดง ในน้ำเสียสังเคราะห์
- กรองวัสดุดูดซับ ด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42
- นำสารละลายไปวิเคราะห์ปริมาณไอออนทองแดงที่เหลือหลังการดูดซับ ด้วยเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชัน สเปกโทรมิเตอร์
- นำผลที่ได้ไปคำนวณหาไอโซเทอร์มการดูดซับแบบแลงเมียร์และฟรุนดลิช