

บทที่ 3

การทดลอง

3.1 สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง แสดงในตาราง 3.1

ตาราง 3.1 ชื่อสารเคมี การใช้ ความบริสุทธิ์ และบริษัทผู้ผลิต

สารเคมี	การใช้	ความบริสุทธิ์	บริษัทผู้ผลิต
กรดอะซิติก	ตัวทำละลาย	>98%	BDH Chemicals
กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น	ทำให้สารละลาย	37%	E.Merck
ไอโซโพรพานอล	โคไดซานตกตะกอน ล้างตะกอนโคไดซาน	เกรดสำหรับ ห้องปฏิบัติการ	E.Merck
โซเดียมไฮดรอกไซด์	ไฮโดรคลอไรด์ ไทแทนต์	เกรดสำหรับ ห้องปฏิบัติการ	Fluka AG
ฟีนอล์ฟทาลีน	อินดิเคเตอร์	เกรดสำหรับ ห้องปฏิบัติการ	Fluka AG
โซเดียมคลอไรด์	ตัวทำละลาย	เกรดสำหรับ การวิเคราะห์	E.Merck
พาราฟินแวกซ์	ตัวเนก	-	-
ซิลิกาเจล	สารดูดความชื้น	เกรดสำหรับ ห้องปฏิบัติการ	BDH Chemicals
ไดโซเดียมไฮโดรเจน ออร์โทฟอสเฟต แอนไฮดรัส	บัฟเฟอร์	เกรดสำหรับ การวิเคราะห์	BDH Chemicals

ตาราง 3.1 (ต่อ)

สารเคมี	การใช้	ความบริสุทธิ์	บริษัทผู้ผลิต
โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 2-ไฮเดรต	บัฟเฟอร์	เกรดสำหรับการวิเคราะห์	E.Merck

3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการศึกษาสมบัติ และลักษณะเฉพาะของแผ่นฟิล์ม
ไคติน-ไคโตซานที่ใช้ในการทดลองนี้ แสดงในตาราง 3.2

ตาราง 3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

อุปกรณ์และเครื่องมือ	บริษัท	รุ่น
ฟูเรียร์ทรานสฟอร์ม-อินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์	Nicolet	510
ดิฟเฟอเรนเชียลสแกนนิ่งแคลอริมิเตอร์	Perkin - Elmer	DSC 7
เทอร์โมกราวิมิเตอร์	Perkin - Elmer	TGA 7
ตู้อบสูญญากาศ	Eyela	VOS-300 SD
ตู้ควบคุมอุณหภูมิ	Memmert	-
ยูเบโลดจ์ วิสโคมิเตอร์	Schott -Gerate	532 O3 Size Oc
เครื่องวิสโคมิเตอร์ระบบอัตโนมัติ พร้อมเครื่องพิมพ์ข้อมูล	Schott -Gerate	AVS 300
เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ	Hirayama	HL 42ADY
เครื่องอบก๊าซเอธิลีนออกไซด์	Immation	3M steri vac 4XL
ไมโครมิเตอร์	L.S.Starrett	No.436-25 mm
เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง	Cole-Parmer	5986-25 pH/mv
เครื่องชั่งน้ำหนัก	Sartorius Basic	BA210s
ถ้วยอะลูมิเนียม	Yasuda	-

3.3 ตัวอย่างแผ่นฟิล์มไคติน-ไคโตซาน

ตัวอย่างแผ่นฟิล์มไคติน-ไคโตซานที่นำมาศึกษาถึงเสถียรภาพในด้านต่างๆ ได้รับมาจากสถาบันเทคโนโลยีแห่งเอเชีย (Asian Institute of Technology, AIT) ซึ่งได้ทำการสกัดไคตินจากเปลือกกุ้ง และทำปฏิกิริยาดีอะเซทิลเลชัน จนได้ไคโตซาน จากนั้นเตรียมแผ่นฟิล์มไคติน-ไคโตซานโดยขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มบางโดยวิธีเทแบบดังนี้ เตรียมสารละลายอิมัลชันของไคโตซานโดยการละลายใน 1% ของกรดอะซิติก แล้วเทสารละลายจำนวน 50 ml ลงในภาชนะขนาด $10 \times 10 \text{ cm}^2$ ทำการระเหยให้แห้งที่อุณหภูมิ $30-35^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นอบแห้งที่ 50°C เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง แล้วนำมาแช่ในสารละลาย 4% NaOH 1-2 ชั่วโมง ล้างน้ำให้ปราศจากด่าง จากนั้นอบให้แห้ง จะได้แผ่นฟิล์มไคติน-ไคโตซาน [34]

ตัวอย่างแผ่นฟิล์มไคติน-ไคโตซาน มีขนาดประมาณ $8 \times 8 \text{ cm}^2$ และมีความหนา (วัดความหนาโดยใช้ไมโครมิเตอร์) อยู่ในช่วง $20 - 27 \text{ }\mu\text{m}$

3.4 วิธีการฆ่าเชื้อแผ่นฟิล์มไคติน-ไคโตซาน

3.4.1 วิธีนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ (Autoclave) [35]

การทำให้ปราศจากเชื้อโดยวิธีนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ เป็นการทำให้ปราศจากเชื้อโดยใช้ความร้อนภายใต้ความดัน โดยอาศัยหลักการของเกย์ ลูสแซค (Gay's Lussac) ที่กล่าวว่า เมื่อปริมาตรคงที่ถ้าความดันของแก๊สเพิ่มขึ้น อุณหภูมิจะเพิ่มขึ้นด้วย โดยปกติจุดเดือดของน้ำจะสัมพันธ์กับความดันบรรยากาศ น้ำจะเดือดที่อุณหภูมิ 100°C เมื่อความดันบรรยากาศเท่ากับ 760 มิลลิเมตรปรอท (14.7 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) ซึ่งอุณหภูมินี้ไม่สามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่มีสปอร์ได้ จึงต้องเพิ่มจุดเดือดของน้ำให้สูงขึ้นโดยการเพิ่มความดันให้สูงขึ้น โดยปกติเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำจะใช้ความดันประมาณ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วซึ่งจะทำให้อุณหภูมิสูงถึง 121°C (250°F)

การทดลองทำโดยนำแผ่นฟิล์มไคติน-ไคโตซาน มาห่อด้วยกระดาษ จากนั้นนำไปทำให้ปราศจากเชื้อโดยวิธีนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ โดยใช้เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ Hirayama รุ่น HL 42ADY สภาวะที่ใช้คือ ความดัน 26 – 27 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิเท่ากับ $132 - 135^{\circ}\text{C}$ ($270 - 274^{\circ}\text{F}$) และใช้เวลา 42 นาที

3.4.2 วิธีอบด้วยแก๊สเอทิลีนออกไซด์ [36]

วิธีอบด้วยแก๊สเอทิลีนออกไซด์เป็นวิธีการทำให้ปราศจากเชื้อ แบบวิธีการทางเคมี เอทิลีนออกไซด์เป็นสารประกอบพอกซีพอกซี (Epoxy compound) ซึ่งเป็นพอกซีไซคลิกอีเทอร์ (Cyclic ether) มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 44.05 จุดเดือดเท่ากับ 10.7°C (51.3°F) และมีจุดเยือกแข็งเท่ากับ -111.3 °C (-168.3 °F)



แก๊สเอทิลีนออกไซด์สามารถทำลายไวรัส รา และพวกแบคทีเรียที่ทนต่อความร้อนที่พบอยู่ในอาหารได้ โดยแก๊สเอทิลีนออกไซด์จะไปทำปฏิกิริยาอัลคิลเลชัน (Alkylation) กับพวกจุลินทรีย์เหล่านี้ที่หมู่อะมิโน หมู่ไฮดรอกซิล และหมู่คาร์บอกซิล มีผลทำให้ไม่สามารถเกิดขบวนการเมตาบอลิซึมและไม่สามารถเกิดใหม่ได้ ทำให้ตายในที่สุด

การทดลองทำโดยนำแผ่นฟิล์มไคติน-ไคโตซาน มาห่อด้วยกระดาษ จากนั้นนำไปทำให้ปราศจากเชื้อโดยวิธีอบด้วยแก๊สเอทิลีนออกไซด์โดยใช้เครื่องอบก๊าซเอทิลีนออกไซด์ Immation รุ่น 3M steri vac 4XL สภาวะที่ใช้คือ อุณหภูมิ เท่ากับ 41°C และใช้เวลา 12 ชั่วโมง

3.5 การหาค่าดีกรีของการดีอะเซทิเลตของแผ่นฟิล์มไคติน-ไคโตซาน โดยวิธีไทเทรชัน [34]

การหาค่าดีกรีของการดีอะเซทิเลตของแผ่นฟิล์มไคติน-ไคโตซานโดยวิธีไทเทรชัน อาศัยหลักของการทำให้ไคโตซานถูกเปลี่ยนไปเป็นสารประกอบไฮโดรคลอไรด์ (Hydrochloride) โดยใช้กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นเติมลงไปในสารละลายของไคโตซานในกรดอะซิติก 10% จนเกิดตะกอนของไคโตซานไฮโดรคลอไรด์ (Chitosan hydrochloride) อย่างสมบูรณ์ แล้วจึงกรองเอาตะกอนออกมาล้างให้หมดกรดด้วยไอโซโพรพานอล (Isopropanol) จากนั้นนำตะกอนไปอบที่อุณหภูมิ 50°C จนน้ำหนักคงที่แล้วนำตะกอนที่น้ำหนักแน่นอนมาละลายในน้ำ เพื่อทำการไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) โดยใช้ฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphthalein) เป็นอินดิเคเตอร์ จากค่าปริมาตรของโซเดียมไฮดรอกไซด์และความเข้มข้นที่

ปริมาณไฮโดรคลอไรด์ที่เกิดขึ้นตรงจุดที่มีหมู่อะมิโน (NH_2) เกาะอยู่บนสายโซ่โมเลกุลของโคโตซาน ซึ่งเป็นการวัดปริมาณของหมู่อะมิโนโดยทางอ้อม

ค่าดัชนีของการดีอะเซทิเลต สามารถคำนวณได้จากสมการ (3.1)

$$\% \text{การดีอะเซทิเลต} = \frac{(CV \times \text{make volume} \times MW \times 100)}{1000 \times V_2 \times w} \quad (3.1)$$

เมื่อ	C	=	ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ (M)
	V_1	=	ปริมาตรของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไทเทรต
	make volume	=	ปริมาตรของสารละลายโคโตซานไฮโดรคลอไรด์
	MW	=	น้ำหนักโมเลกุลของโคโตซานไฮโดรคลอไรด์ (=197.5)
	V_2	=	ปริมาตรของสารละลายโคโตซานไฮโดรคลอไรด์ที่ใช้ในการไทเทรต
	w	=	น้ำหนักของ โคโตซานไฮโดรคลอไรด์ที่นำมาละลายน้ำเพื่อไทเทรต

การทดลองหาค่าดัชนีของการดีอะเซทิเลตทำโดยละลายแผ่นฟิล์มโคติน-โคโตซาน 0.04 g ใน 5 ml ของกรดอะซิติก 10% แล้วคนจนละลายหมด ได้สารละลายหนืด หยดกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้นลงไปในสารละลายหนืดนี้จนสารละลายตลอดเวลาจนได้ตะกอนสีขาวของโคโตซานไฮโดรคลอไรด์แล้วหยดกรดต่อไปอีก จนสังเกตเห็นว่าไม่มีตะกอนเกิดเพิ่มขึ้นอีก กรองตะกอนขาวที่ได้จากนั้นล้างตะกอนด้วยไอโซโพรพานอลจนหมดกรด อบตะกอนโคโตซานไฮโดรคลอไรด์ที่กรองได้ในตู้อบสูญญากาศที่อุณหภูมิ 50°C จนน้ำหนักคงที่ (ใช้เวลาประมาณ 3 ชั่วโมง) ซึ่งตะกอนแล้วนำมาละลายน้ำจนหมด ทำปริมาตรให้เป็น 50.00 ml บีบตสารละลายดังกล่าว 15.00 ml ไทเทรตกับ 0.05 M ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยใช้ฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ (ทำมาตรฐานสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ก่อนด้วยสารละลายโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟทาเลต ใช้ฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์) คำนวณหาค่าดัชนีของการดีอะเซทิเลตจากสมการ (3.1)

3.6 การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำและปริมาณน้ำสมดุลของแผ่นฟิล์มไคติน-ไคโตซาน

การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำ (Water content, WC) ในแผ่นฟิล์มไคติน-ไคโตซานเป็นการวัดความสามารถในการดูดซับน้ำ เมื่อนำแผ่นฟิล์มไปแช่ในน้ำที่มีการควบคุมอุณหภูมิในช่วงที่ต้องการทดลอง โดยที่ปริมาณน้ำในแผ่นฟิล์มสามารถคำนวณได้จากสมการ (3.2) [37]

$$\text{ปริมาณน้ำ} = \frac{\text{น้ำหนักของแผ่นฟิล์มขณะพองตัว} - \text{น้ำหนักของแผ่นฟิล์มขณะแห้ง}}{\text{น้ำหนักของแผ่นฟิล์มขณะพองตัว}} \times 100\% \quad (3.2)$$

ปริมาณน้ำสมดุล (Equilibrium water content, EWC) คือ ปริมาณน้ำที่สมดุลที่แผ่นฟิล์มไคติน-ไคโตซานสามารถดูดซับได้ซึ่งปริมาณน้ำในแผ่นฟิล์มไคติน-ไคโตซานนี้จะไม่เปลี่ยนแปลงตามเวลาอีกต่อไป ซึ่งหาได้จากกราฟที่พลอตระหว่างปริมาณน้ำกับเวลา

การทดลองทำโดยนำแผ่นฟิล์มไคติน-ไคโตซานมาตัดเป็นวงกลมเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 7.5 cm แล้วนำไปอบในตู้อบสูญญากาศที่อุณหภูมิ 60°C จนกระทั่งน้ำหนักคงที่ จากนั้นนำออกมาชั่งน้ำหนัก บันทึกเป็นน้ำหนักแห้งก่อนแช่น้ำ นำแผ่นฟิล์มลงแช่ในน้ำกลั่นที่ควบคุมให้มีอุณหภูมิ 35 ± 1°C แล้วนำออกมาชั่งด้วยกระดาษกรองและชั่งน้ำหนักตามระยะเวลาที่เหมาะสม ทำเช่นนี้จนกระทั่งน้ำหนักของแผ่นฟิล์มคงที่ นำผลการชั่งน้ำหนักที่เวลาต่างๆ มาคำนวณค่าปริมาณน้ำจากสมการ (3.2) และหาค่าปริมาณน้ำสมดุลจากกราฟที่พลอตระหว่างปริมาณน้ำกับเวลา

3.7 การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำคงอยู่และปริมาณน้ำคงอยู่สมดุลของแผ่นฟิล์มไคติน-ไคโตซาน

เมื่อนำแผ่นฟิล์มไคติน-ไคโตซานที่อิมมัลด้วยน้ำวางไว้ในอากาศที่ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ น้ำในแผ่นฟิล์มจะระเหยออกไปแต่จะยังมีน้ำจำนวนหนึ่งซึ่งยังคงอยู่ เรียกปริมาณน้ำนี้ว่า ปริมาณน้ำคงอยู่ (Water retention, WR) ซึ่งสามารถคำนวณได้จากสมการ (3.3) [38]

$$\text{ปริมาณน้ำคงอยู่} = \frac{\text{ปริมาณน้ำ ณ เวลาใดๆ}}{\text{ปริมาณน้ำสมดุล}} \times 100\% \quad (3.3)$$

เมื่อเวลาผ่านไปจนถึงจุดสมดุล ปริมาณน้ำคงอยู่จะคงที่ไม่เปลี่ยนแปลงตามเวลาอีกต่อไป ปริมาณน้ำจำนวนนี้ เรียกว่า ปริมาณน้ำคงอยู่สมดุล (Equilibrium water retention, EWR) ซึ่งหาได้จากกราฟที่พลอตระหว่างปริมาณน้ำคงอยู่กับเวลา

การทดลองทำโดยนำแผ่นฟิล์มไคติน-ไคโตซานแช่ในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ $35 \pm 1^\circ\text{C}$ เป็นเวลา 1 คืน เพื่อให้แผ่นฟิล์มดูดซับน้ำจนถึงสมดุล จากนั้นนำออกมาซับด้วยกระดาษกรอง แล้วชั่งน้ำหนัก บันทึกเป็นน้ำหนักที่สมดุล นำแผ่นฟิล์มไปไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ควบคุมให้มีอุณหภูมิ $35 \pm 1^\circ\text{C}$ และความชื้นสัมพัทธ์ 55-60% แล้วนำแผ่นฟิล์มนี้ออกมาชั่งน้ำหนักตามเวลาที่เหมาะสม ทำเช่นนี้จนกระทั่งน้ำหนักของแผ่นตัวอย่างคงที่ คำนวณหาปริมาณน้ำคงอยู่จากสมการ (3.3) และหาปริมาณน้ำคงอยู่สมดุลจากกราฟที่พลอตระหว่างปริมาณน้ำคงอยู่กับเวลา

3.8 การวิเคราะห์อัตราการผ่านของไอน้ำของแผ่นฟิล์มไคติน-ไคโตซาน

การวิเคราะห์อัตราการผ่านของไอน้ำโดยวิธีของ American Society for the Testing Materials (ASTM E96-90) [39] ทำได้ 2 เทคนิค คือ วิธี อินเวอร์ทเทด คัพ (Inverted Cup) กับวิธีวอเตอร์ คัพ (Water Cup) โดยจะประกอบวัสดุตัวอย่างเข้ากับถ้วยอะลูมิเนียม (รูป 3.1) ที่บรรจุน้ำอยู่ภายใน ใช้พาราฟินแวกซ์เป็นตัวผนึก นำถ้วยอะลูมิเนียมที่ประกอบเสร็จและชั่งน้ำหนักแล้วไปวางในตู้อบที่ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นที่ต้องการศึกษา จากนั้นนำถ้วยอะลูมิเนียมออกมาชั่งน้ำหนักตามระยะเวลาที่เหมาะสม (วิธีวอเตอร์ คัพ จะวางถ้วยอะลูมิเนียมหงายขึ้นไม่ให้น้ำในถ้วยอะลูมิเนียมสัมผัสกับแผ่นวัสดุตัวอย่าง ส่วนวิธีอินเวอร์ทเทด คัพ จะคว่ำถ้วยอะลูมิเนียมลงให้น้ำสัมผัสกับแผ่นวัสดุตัวอย่าง) นำผลที่ได้มาพลอตกราฟระหว่างน้ำหนักที่เปลี่ยนแปลงเทียบกับเวลา หาความชันแล้วคำนวณหาอัตราการผ่านของไอน้ำ (WVT) จากสมการ (3.4)

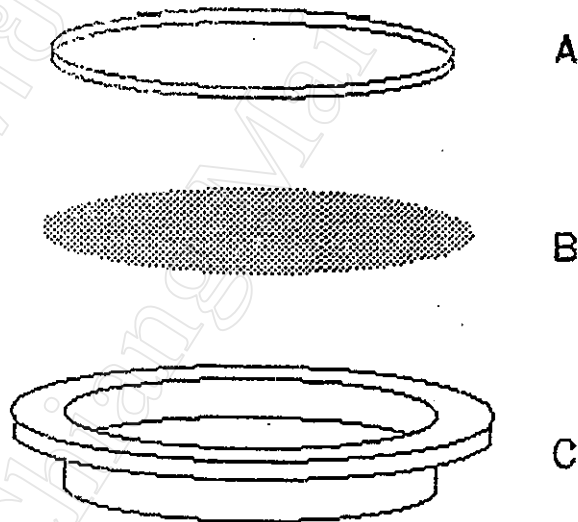
$$WVT = \frac{G}{tA} = \frac{(G/t)}{A} \quad (3.4)$$

เมื่อ

G = น้ำหนักที่เปลี่ยนแปลง, g

t = เวลา, hr

G/t = อัตราการเปลี่ยนของน้ำหนัก, g/hr

A = พื้นที่ของการระเหยผ่าน ($=2.8274 \times 10^{-3} \text{ m}^2$)WVT = อัตราการผ่านของไอน้ำ, g/hr m²

รูป 3.1 ถ้วยอะลูมิเนียมที่ใช้ในการหาอัตราการผ่านของไอน้ำ

A = วงแหวน B = แผ่นวัสดุตัวอย่าง C = ถ้วยอะลูมิเนียม

3.8.1 วิธีอินเวอร์ทเตด คัพ

ตัดแผ่นฟิล์มไคติน-ไคโตซานตัวอย่างเป็นรูปวงกลมเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 7.5 cm วัดความหนาของแผ่นตัวอย่างด้วยไมโครมิเตอร์ จากนั้นแช่แผ่นตัวอย่างนี้ลงในน้ำจนเข้าสู่สมดุล นำแผ่นฟิล์มออกมาซับด้วยกระดาษกรอง วัดความหนาด้วยไมโครมิเตอร์อีกครั้งแล้วจึงประกอบเข้ากับถ้วยอะลูมิเนียมที่บรรจุน้ำอยู่ 40 ml โดยใช้พาราฟินแว็กซ์เป็นตัวผนึก ซึ่งน้ำหนักถ้วยอะลูมิเนียมที่ประกอบเสร็จแล้ว บันทึกเป็นน้ำหนักที่เวลาเท่ากับศูนย์ จากนั้นจึงนำไปวางคว่ำไว้ในตู้อบที่ควบคุมให้มีอุณหภูมิ $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ความชื้นสัมพัทธ์ 55-60% นำถ้วยอะลูมิเนียมออกมาชั่งน้ำหนักตามเวลาที่เหมาะสม บันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ตลอดการทดลอง พลอตกราฟระหว่างน้ำหนักของน้ำที่หายไปกับเวลาเพื่อหาความชัน คำนวณอัตราการผ่านของไอน้ำจากสมการ (3.4)

3.8.2 วิธีเวอร์เทอร์ คัพ

ตัดแผ่นฟิล์มไคติน-ไคโตซานตัวอย่างเป็นรูปวงกลมเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 7.5 cm วัดความหนาของแผ่นฟิล์มด้วยไมโครมิเตอร์ จากนั้นแช่แผ่นตัวอย่างนี้ลงในน้ำจนเข้าสู่สมดุล นำแผ่นฟิล์มออกมาซับด้วยกระดาษกรองแล้วนำแผ่นกระจกมาวางทับ นำเข้าตู้ที่ควบคุมให้มีอุณหภูมิ $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$ จนกระทั่งแผ่นฟิล์มเหลือปริมาณน้ำเท่ากับปริมาณน้ำคงอยู่สมดุลจึงเอาออกเติมน้ำลงในถ้วยอะลูมิเนียม 20 ml ประกอบแผ่นฟิล์มเข้ากับถ้วยอะลูมิเนียมโดยใช้พาราฟินแว็กซ์เป็นตัวผนึก ซึ่งน้ำหนักถ้วยอะลูมิเนียมที่ประกอบเสร็จแล้วบันทึกเป็นน้ำหนักที่เวลาเท่ากับศูนย์ จากนั้นนำไปวางหงายไว้ในตู้ที่ควบคุมให้มีอุณหภูมิ $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$ และความชื้นสัมพัทธ์ 55-60% นำถ้วยอะลูมิเนียมออกมาชั่งน้ำหนักตามเวลาที่เหมาะสม บันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ตลอดการทดลอง พลอตกราฟระหว่างน้ำหนักของน้ำที่หายไปกับเวลาเพื่อหาความชัน คำนวณหาอัตราการผ่านของไอน้ำจากสมการ (3.4)

3.9 อินฟราเรดสเปกโทรสโคปี [40]

เทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโคปี (Infrared Spectroscopy; IR) เป็นเทคนิคที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์พิสูจน์และศึกษาเกี่ยวกับโมเลกุลของสาร เช่น การหาหมู่ฟังก์ชันที่ปรากฏออกมาที่ความถี่ในอินฟราเรดสเปกตรัมของหมู่ฟังก์ชันต่างกัน มีการดูดกลืนรังสีในช่วงคลื่นต่างกัน

การทดลองใช้เครื่องอินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์ของ Nicolet รุ่น FT-IR 510 ทำการศึกษาอินฟราเรดสเปกตรัมของแผ่นฟิล์มไคติน-ไคโตซาน ทำโดยการตัดแผ่นฟิล์มไคติน-ไคโตซาน ให้มีขนาดประมาณ $1.0 \times 1.5 \text{ cm}^2$ นำไปอบในตู้อบสุญญากาศที่ 60°C เพื่อไล่ความชื้นจนน้ำหนักคงที่ จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องอินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์

3.10 การวิเคราะห์ทางความร้อนด้วยเทคนิคเทอร์โมกราวิเมตรี [41-42]

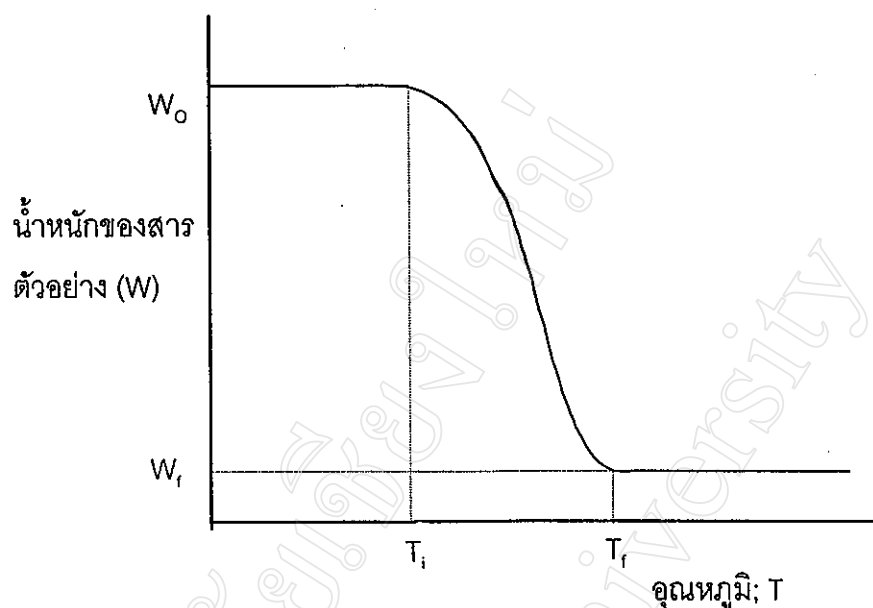
เทอร์โมกราวิเมตรี (TG) เป็นเทคนิคการวัดการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของสารเทียบกับอุณหภูมิ โดยกำหนดให้มีอัตราของการให้ความร้อนคงที่และการวิเคราะห์ทำภายใต้บรรยากาศของก๊าซเฉื่อย เช่น ก๊าซไนโตรเจน

โดยทั่วไปเทคนิคเทอร์โมกราวิเมตรี จะสามารถแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ

i. ไอโซเทอร์มอล เทอร์โมกราวิเมตรี (Isothermal thermogravimetry) วิธีการนี้ใช้ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักของสารตัวอย่างที่สัมพันธ์กับเวลาที่เพิ่มขึ้นในขณะที่ทำการควบคุมให้อุณหภูมิคงที่

ii. นอน-ไอโซเทอร์มอล เทอร์โมกราวิเมตรี (Non-isothermal thermogravimetry) หรืออาจเรียกว่า ไดนามิกเทอร์โมกราวิเมตรี (Dynamic thermogravimetry) เป็นการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของสารต่อการเพิ่มขึ้นของเวลาและอุณหภูมิ ในขณะที่ควบคุมอัตราการเพิ่มความร้อนนั้นคงที่

การทดลองในงานวิจัยนี้ใช้ไดนามิก เทอร์โมกราวิเมตรี กราฟ TG โดยทั่วไปแสดงดังรูป 3.2 [42]



รูป 3.2 ความเสถียรทางความร้อนของสารตัวอย่าง โดยใช้เทคนิคไดนามิกเทอร์โมกราวิเมตรี

W_0 เป็นน้ำหนักเริ่มต้นของสารตัวอย่าง W_f เป็นน้ำหนักสุดท้ายของสารตัวอย่าง

T_i เป็นอุณหภูมิที่เริ่มสูญเสียน้ำหนัก และ T_f เป็นอุณหภูมิหลังการสูญเสียน้ำหนัก

การทดลองทำโดยตัดแผ่นฟิล์มไคติน-ไคโตซานให้เป็นชิ้นเล็กๆ นำไปอบในตู้อบสุญญากาศที่ 60°C เพื่อไล่ความชื้นจนน้ำหนักคงที่ก่อนนำไปทดสอบ จากนั้นนำไปศึกษาการสลายตัวทางความร้อนของแผ่นฟิล์มไคติน-ไคโตซานโดยใช้เครื่องเทอร์โมกราวิเมตริก แอนาไลเซอร์ (Thermogravimetric analyzer) ของบริษัท Perkin - Elmer รุ่น TGA 7 สภาพที่ใช้ในการวิเคราะห์ ดังนี้

Final Temp	: 800.0°C	End Condition	: Load Temp
Start Temp	: 50.0°C	Load Temp	: 50.0°C
Scanning Rate	: $20.0^{\circ}\text{C}/\text{min}$	Go to Temp Rate	: 200.0°C
Y range	: 100.0%	N ₂ Atmosphere	
Sample Weight	ประมาณ 3 – 5 mg		

3.11 การหาน้ำหนักโมเลกุลของแผ่นฟิล์มไคติน-ไคโตซานด้วยวิธี วิสโคเมตรี [43-44]

การหาน้ำหนักโมเลกุลของแผ่นฟิล์มไคติน-ไคโตซานด้วยวิธีวิสโคเมตรีนี้จะใช้หลักการในการหาความหนืดของสารละลายพอลิเมอร์ เมื่อพอลิเมอร์ละลายในตัวทำละลายที่เหมาะสมจะเกิดแรงกระทำระหว่างพอลิเมอร์กับโมเลกุลของตัวทำละลายทำให้สายโซ่พอลิเมอร์มีการจัดเรียงตัวในรูปแบบต่างๆ กันไป ซึ่งขึ้นอยู่กับแรงกระทำระหว่างพอลิเมอร์กับตัวทำละลายแต่ละคู่ ถ้าพอลิเมอร์กับตัวทำละลายมีแรงกระทำสูงสายโซ่ของพอลิเมอร์จะยืดออกมาเป็นเส้น แต่ถ้ามีแรงกระทำน้อยพอลิเมอร์จะขดรวมกันเป็นกลุ่มก้อน เรียกลักษณะนี้ว่าทรงกลม ส่วนพอลิเมอร์กับตัวทำละลายที่มีแรงกระทำปานกลางมีลักษณะขดรวมกันเป็นกลุ่มอย่างหลวมๆ ไม่เป็นระเบียบ เรียกลักษณะนี้ว่าแรนดอม คอยล์ (Random coil)

เมื่อตัวทำละลายเปลี่ยนไปจะส่งผลทำให้รูปร่างของพอลิเมอร์เปลี่ยน นอกจากแรงกระทำระหว่างพอลิเมอร์กับตัวทำละลายจะทำให้พอลิเมอร์มีรูปร่างต่างกันแล้ว ยังทำให้สารละลายพอลิเมอร์มีความหนืดมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับความหนืดของตัวทำละลายบริสุทธิ์ เพราะพอลิเมอร์มีโมเลกุลขนาดใหญ่ เมื่อตัวทำละลายเข้าไปล้อมรอบทำให้มีขนาดอยู่ในช่วงของคอลลอยด์จึงทำให้เกิดความหนืดสูงขึ้น แรงกระทำระหว่างพอลิเมอร์กับตัวทำละลายที่มีตัวทำละลายอยู่รอบคล้ายทรงกลม เรียกว่าทรงกลมของแรงกระทำ (Sphere of interaction) จะได้ว่า $\eta > \eta_0$ เมื่อ η คือ ความหนืดของสารละลายพอลิเมอร์ที่อุณหภูมิหนึ่งๆ และ η_0 คือ ความหนืดของตัวทำละลายบริสุทธิ์ที่อุณหภูมิเดียวกัน

ความหนืดของสารละลายพอลิเมอร์ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ความเข้มข้นของสารละลายธรรมชาติของตัวทำละลาย ชนิดและน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ เมื่อน้ำหนักโมเลกุลและความเข้มข้นของสารละลายพอลิเมอร์มีค่ามากขึ้น จะทำให้ความหนืดมีค่ามากขึ้น แต่ในทางตรงข้ามถ้าอุณหภูมิสูงขึ้นจะทำให้ความหนืดมีค่าลดลง

เครื่องมือสำหรับวัดค่าความหนืดเรียกว่า “วิสโคมิเตอร์” ที่นิยมใช้มีอยู่ 2 แบบ คือ ออสท์วาลด์ วิสโคมิเตอร์ (Ostwald viscometer) และ ยูเบลโลห์ดี วิสโคมิเตอร์ (Ubbelohde viscometer) วิสโคมิเตอร์ทั้งสองแบบนี้มีหลักการที่คล้ายคลึงกัน โดยต้องทำการวัดเวลาในการไหลของตัวทำละลายกับสารละลายพอลิเมอร์ แต่จะมีความแตกต่างกันตรงที่วิสโคมิเตอร์แบบยูเบลโลห์ดีสามารถทำการเจือจางความเข้มข้นของสารละลายได้ภายในวิสโคมิเตอร์

ในการทดลองเลือกใช้วิสโคมิเตอร์แบบยูเบโลอิดส์ เพื่อทำการวัดเวลาของการไหลของตัวทำละลายกับสารละลาย แล้วนำไปหาความหนืด ดังสมการต่อไปนี้ [43]

ความหนืดของตัวทำละลาย (η_0) หาได้จาก

$$\begin{aligned}\eta_0 &= A\rho_0 t_0 - B\rho_0 / t_0 \\ &= A\rho_0 t_0 (1 - B/At_0^2)\end{aligned}\quad (3.5)$$

ความหนืดของสารละลายพอลิเมอร์ (η) หาได้จาก

$$\begin{aligned}\eta &= A\rho t - B\rho / t \\ &= A\rho t (1 - B/At^2)\end{aligned}\quad (3.6)$$

โดยที่ A,B คือ ค่าคงที่ของวิสโคมิเตอร์แต่ละอัน

ρ_0 คือ ความหนาแน่นของตัวทำละลาย

ρ คือ ความหนาแน่นของสารละลาย

t คือ เวลาในการไหลของสารละลาย

t_0 คือ เวลาในการไหลของตัวทำละลายบริสุทธิ์

ในการทดลองทำการเปรียบเทียบค่าความหนืดของสารละลายพอลิเมอร์ต่อความหนืดของตัวทำละลายได้อัตราส่วนของ η / η_0 เรียกว่า ความหนืดสัมพัทธ์ (relative viscosity; η_r)

$$\eta_r = \eta / \eta_0 \quad (3.7)$$

$$\eta_r = \frac{\eta}{\eta_0} = \frac{A\rho t (1 - B/At^2)}{A\rho_0 t_0 (1 - B/At_0^2)} \quad (3.8)$$

เนื่องจากความหนืดของสารละลายพอลิเมอร์สูงกว่าความหนืดของตัวทำละลายบริสุทธิ์ ดังนั้นจะได้ว่าค่าของ $\eta_r > 1$ เสมอ

ในการนำสมการ (3.8) มาใช้ มีสมมติฐานที่ช่วยในการคำนวณ 2 ข้อ ดังนี้คือ สมมติฐานที่ 1 กรณีที่สารละลายพอลิเมอร์เจือจางมากๆ $\leq 1\% \text{ w/v}$ ($\leq 1 \text{ g/100 cm}^3$ หรือ $\leq 1 \text{ g/dl}$) จะถือได้ว่าความหนาแน่นของสารละลายมีค่าประมาณเท่ากับความหนาแน่นของตัวทำละลาย คือ ($\rho \approx \rho_0$) สมมติฐานที่ 2 เลือกใช้ขนาดวิสโคมิเตอร์ที่ให้ค่าเวลาในการไหล t และ t_0 มากกว่า 100 วินาที เมื่อ $t, t_0 > 100$ วินาที จึงทำให้เทอม B/At^2 กับ B/At_0^2 มีค่าต่ำจนสามารถตัดทิ้งได้ จะได้ว่า

$$\eta_r = \frac{\eta}{\eta_0} = \frac{A\rho t(1-B/At^2)}{A\rho_0 t_0(1-B/At_0^2)} = \frac{t}{t_0} \quad (3.9)$$

ถ้าพิจารณาเฉพาะค่าความหนืดของพอลิเมอร์ โดยไม่รวมกับตัวทำละลาย แล้วนำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับค่าความหนืดของตัวทำละลาย เรียกค่านี้ว่าความหนืดจำเพาะ (Specific viscosity; η_{sp}) มีความสัมพันธ์ดังนี้

$$\eta_{sp} = \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0} = \frac{t - t_0}{t_0} = \eta_r - 1 \quad (3.10)$$

ค่า η_{sp} จะแปรเปลี่ยนขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารละลายพอลิเมอร์ โดยมีค่า η_{sp} เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น เมื่อต้องการค่าความหนืดของสารละลาย โดยไม่ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารละลายพอลิเมอร์ จะสามารถทำได้โดยการนำค่า η_{sp} หารด้วยความเข้มข้น (η_{sp}/C) จึงเรียกความสัมพันธ์ใหม่นี้ว่า ความหนืดรีดิวซ์ (reduced viscosity; η_{red})

$$\eta_{\text{red}} = \frac{\eta_{\text{sp}}}{C} = \frac{\eta_r - 1}{C} \quad (3.11)$$

เมื่อ C เป็นความเข้มข้นของสารละลายพอลิเมอร์ มีหน่วยเป็น g/dl

ค่าความหนืดรีดิวซ์ยังสามารถเปลี่ยนค่าได้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้น แม้ว่าจะไม่มากก็ตาม ดังแสดงได้ในสมการของฮักกินส์ (Huggins equation)

$$\eta_{\text{red}} = \eta_{\text{sp}}/C = [\eta] + k'[\eta]^2 C \quad (3.12)$$

เมื่อ $[\eta]$ คือ ค่าความหนืดอินทรินซิก มีหน่วยเป็น dl/g

k' คือ ค่าคงที่ของฮักกินส์ (Huggins constant)

นอกจากนี้ยังมีพารามิเตอร์ทางความหนืดอีกอย่างหนึ่ง คือ ความหนืดอินเฮียเรนต์ (inherent viscosity; η_{inh}) ซึ่งมีความสัมพันธ์ดังนี้

$$\eta_{\text{inh}} = (\ln \eta_r) / C \quad (3.13)$$

ค่า η_{inh} ก็เช่นเดียวกันกับค่า η_{red} ที่จะแปรตามความเข้มข้น ดังแสดงในสมการของเครเมอร์ (Kraemer equation)

$$\eta_{\text{inh}} = (\ln \eta_r) / C = [\eta] + k''[\eta]^2 C \quad (3.14)$$

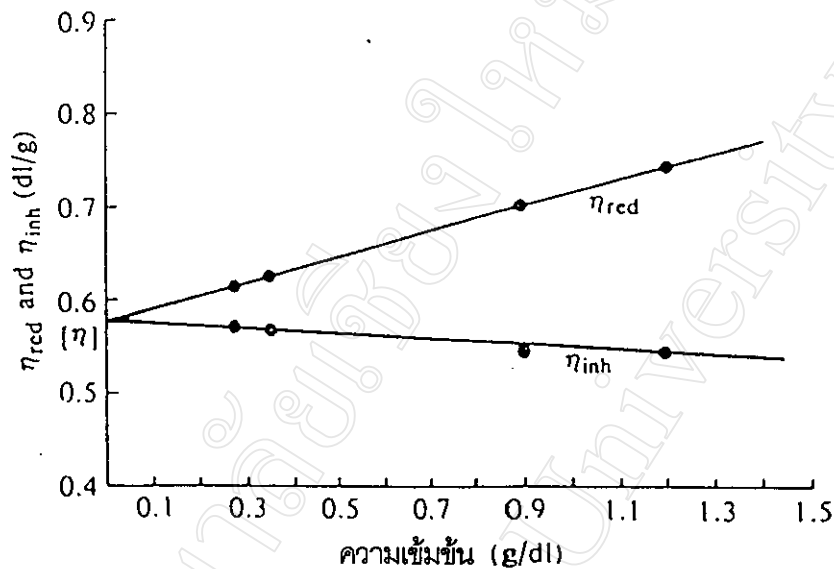
เมื่อ k'' คือ ค่าคงที่ของเครเมอร์ (Kraemer constant)

ในทางทฤษฎี จะมีค่าของ $k' - k'' = 0.5$

จากสมการ (3.12) และ (3.14) ที่ความเข้มข้นต่ำมากๆ เทอมสุดท้ายของสมการทั้งสอง มีค่าต่ำจนสามารถตัดทิ้งได้ นั่นคือ

$$[\eta] = \lim_{C \rightarrow 0} \eta_{\text{sp}} / C = \lim_{C \rightarrow 0} (\ln \eta_r) / C \quad (3.15)$$

ค่า $[\eta]$ หาได้จากจุดตัด (Intercept) ที่ $C = 0$ ของการพล็อตกราฟระหว่าง η_{sp}/C กับ C และการพล็อตกราฟระหว่าง $(\ln \eta_r)/C$ กับ C ดังแสดงในรูป 3.3 [45]



รูป 3.3 ความสัมพันธ์ระหว่าง η_{red} และ η_{inh} กับความเข้มข้น

จากสมการ (3.5)-(3.15) สรุปความสัมพันธ์ของค่าความหนืดในเทอมต่างๆ [46] ให้อย่างตาราง 3.3

ตาราง 3.3 ความสัมพันธ์ของค่าความหนืดในเทอมต่างๆ [46]

ชื่อสามัญ	สัญลักษณ์และสมการแสดงค่า
ความหนืดสัมพัทธ์	$\eta_r = \eta / \eta_0 = t / t_0$
ความหนืดจำเพาะ	$\eta_{sp} = \eta_r - 1 = (\eta - \eta_0) / \eta_0$
ความหนืดรีดิวซ์	$\eta_{red} = \eta_{sp} / C$
ความหนืดอินเฮียเรนต์	$\eta_{inh} = (\ln \eta_r) / C$
ความหนืดอินทรินซิก	$[\eta] = (\eta_{sp} / C)_{C=0} = ((\ln \eta_r) / C)_{C=0}$

ค่าความหนืดอินทรีนซิก, $[\eta]$ สัมพันธ์กับน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ ซึ่งคำนวณได้จากสมการของ Mark-Houwink-Sakurada ดังนี้

$$[\eta] = K \bar{M}_v^a \quad (3.16)$$

เมื่อ K และ a เป็นค่าคงที่สำหรับพอลิเมอร์และตัวทำละลายที่อุณหภูมิใดๆ ซึ่งหาได้จาก "Polymer Handbook" [44]

ในสมการ Mark-Houwink-Sakurada ค่า a จะอยู่ในช่วง $0.5 \leq a \leq 1.0$ และค่า a สามารถบอกถึงรูปร่างของโมเลกุลพอลิเมอร์ในสารละลายได้

- เมื่อ $a > 0.8$ โมเลกุลพอลิเมอร์จะมีรูปร่างเป็นแท่ง หรือเส้น (Rod)
- $a = 0.6 - 0.8$ ส่วนใหญ่พอลิเมอร์จะมีค่า a อยู่ในช่วงนี้ รูปร่างโมเลกุลจะมีลักษณะขดรวมกันเป็นกลุ่มอย่างหลวมๆ ไม่เป็นระเบียบ เรียก แรนดอม คอยล์ (Random coil)
- $a < 0.6$ โมเลกุลพอลิเมอร์จะขดเป็นก้อนกลมๆ (Globular sphere)

การทดลองนี้ ใช้ 0.1 M Acetic acid/ 0.2 M NaCl เป็นตัวทำละลายและควบคุมอุณหภูมิที่ $30.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$ K และ a ในสมการ (3.16) มีค่าเท่ากับ $1.81 \times 10^{-5} \text{ dl/g}$ และ 0.93 ตามลำดับ [47] การหาน้ำหนักโมเลกุลของแผ่นฟิล์มไคติน-ไคโตซานด้วยวิธีวิสโคเมตรีในการทดลองนี้ใช้วิสโคมิเตอร์แบบยูเนโลดส์ เบอร์ 532 03/0c ทำการต่อวิสโคมิเตอร์กับเครื่องวิสโคมิเตอร์ระบบอัตโนมัติพร้อมเครื่องพิมพ์ข้อมูล ของบริษัท Schott-Gerate รุ่น AVS 300 วิสโคมิเตอร์ถูกยึดไว้ด้วยที่ยึดและแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ทำการวัดเวลาของการไหลของสารละลายจากเครื่องวิสโคมิเตอร์ระบบอัตโนมัติ เตรียมสารละลายที่มีความเข้มข้นในช่วง 0.003125-0.1000 g/dl โดยชั่งแผ่นฟิล์มไคติน-ไคโตซาน 0.0500 g มาละลายในตัวทำละลาย 0.1 M Acetic acid/0.2 M NaCl จนเป็นเนื้อเดียวกัน ปริมาตรให้ได้ 50 ml ได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 0.1000 g/dl จากนั้นทำการเจือจางจนได้ความเข้มข้น 0.0500 0.0250 0.0125 0.00625 และ 0.003125 g/dl ตามลำดับ ปิเปตสารละลายปริมาตร 15.00 ml ใส่ลงในวิสโคมิเตอร์ นำไปแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ $30.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$ ประมาณ 15 นาที เพื่อให้อุณหภูมิสมดุลก่อนเริ่มทำการวัดเวลาของการไหล ทำซ้ำจนได้ค่าที่ทดลองได้ 3 ครั้ง มีความคลาดเคลื่อนต่ำกว่า $\pm 0.2\%$ ของค่าเฉลี่ย แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาความหนืดและน้ำหนักโมเลกุลต่อไป

3.12 การศึกษาถึงเสถียรภาพในการเก็บรักษาของแผ่นฟิล์มไคติน-ไคโตซาน

การศึกษาถึงเสถียรภาพในการเก็บรักษาของแผ่นฟิล์มไคติน-ไคโตซาน ทำได้โดยการนำแผ่นฟิล์มไคติน-ไคโตซานที่ฆ่าเชื้อแล้วใส่ถุงพลาสติกเก็บไว้ในโถดูดความชื้น(desiccator) ที่อุณหภูมิห้องและความดันบรรยากาศปกติ จากนั้นนำแผ่นฟิล์มตัวอย่างมาหาลักษณะเฉพาะทุกเดือน คือ ปริมาณน้ำและปริมาณน้ำสมดุล ปริมาณน้ำคงอยู่และปริมาณน้ำคงอยู่สมดุล อัตราการผ่านของไอน้ำโดยวิธีอินเวอร์ทเตด คัพ และวิธีวอร์เทอร์ คัพ และน้ำหนักโมเลกุล ใช้เวลาในการเก็บรักษาทั้งหมด 12 เดือน

3.13 การศึกษาถึงเสถียรภาพของแผ่นฟิล์มไคติน-ไคโตซานเมื่ออยู่ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ [48]

สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.2 M pH 7.4 เตรียมจากแอนไฮดรัสไดโซเดียมไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต (Na_2HPO_4) และโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 2-ไฮเดรต ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)

คำนวณหาปริมาณของส่วนประกอบของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์นี้จากสมการของ Henderson-Hasselbalch Equation (3.17) [48]

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log \frac{[\text{Salt}]}{[\text{Acid}]} \quad (3.17)$$

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log \frac{[\text{Na}_2\text{HPO}_4]}{[\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]} \quad (3.18)$$

น้ำหนัก $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ และ Na_2HPO_4 ที่คำนวณได้เท่ากับ 12.2405 และ 17.2538 g ตามลำดับ การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.2 M และมี pH 7.4 ทำโดยใช้กรด $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 12.2405 g และเกลือ Na_2HPO_4 17.2538 g ละลายในน้ำที่ปราศจากไอออน 1 ลิตร (ปรับ pH ของสารละลายให้คงที่ด้วย 2 M NaOH)

การทดลองหาเสถียรภาพของแผ่นฟิล์มไคติน-ไคโตซานเมื่ออยู่ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ทำโดยการตัดแผ่นฟิล์มไคติน-ไคโตซาน ที่ผ่านการอบด้วยแก๊สเอทิลีนออกไซด์ ขนาด $3.5 \times 7.4 \text{ cm}^2$ จำนวน 3 แผ่น นำไปอบในตู้อบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 60°C จนกระทั่งน้ำหนักคงที่ นำแผ่นไคติน-ไคโตซานที่อิมมัตด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ ใส่ลงในขวดที่มีสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์อยู่ประมาณ 150 ml ปิดฝา นำไปวางไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ $35 \pm 1^\circ\text{C}$ แล้วนำออกมาชั่งน้ำหนักทุกๆ วันเป็นเวลา 7 วัน ทุกๆ สัปดาห์เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ทุกๆ 15 วันเป็นเวลา 3 เดือน และทุกๆ เดือนเป็นเวลา 8 เดือน ใช้เวลาทั้งหมด 12 เดือน