

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

- สาร เบนซีน มีความบริสุทธิ์ 99.98%
- สาร Hexanes มีความบริสุทธิ์ 98.5 %
- โพลีดูดความชื้น
- แผ่นอลูมิเนียมฟอยล์
- เข็มฉีดยา ขนาด 10 ml
- Gas syring (IMR-VLL-GT 1 ML. SYRINGE Vertical Chromatography Co.,Ltd.)
- พาราฟิน
- ถ้วยกระเบื้อง
- ปีกเกอร์ขนาด 250 ml
- กระดาษกรอง เบอร์ 2 (Whatman)
- เม็ดแก้ว
- โกรงบดยา
- เครื่องบด Ultra Centrifugal Mill
- โพลีแก้วสุญญากาศ
- ตะแกรง ขนาด 1.75 mm
- เครื่องอบ (Hot Oven) บริษัท BEC thai Bangkok Equipment a & Chemical co.ltd
- เครื่อง GC 430 (Gas Chromatography) (คอลัมน์ VF- 1 ms 15 Mx0.25 mm ID DF =0.25 อุณหภูมิ Injector 250 องศาเซลเซียส Detector 200 องศาเซลเซียส Oven 50 องศาเซลเซียส

การเตรียมตัวดูดซับจากใบพืช

นำใบพืชทั้งหมด 18 ชนิด (ตารางที่ 3.1) มาตัดเป็นชิ้นเล็กใส่ถ้วยกระเบื้องแล้วนำเข้าเครื่องอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 วัน จนแห้งนำมาตำให้ละเอียดแล้วกรองด้วยตะแกรงขนาด 1.75 mm นำไปเข้าเครื่องอบอีกครั้งให้แห้ง จากนั้นนำเอาวัสดุดูดซับที่บดได้ไปชั่งปริมาณ 0.2 กรัม

ตารางที่ 3.1 ชนิดของใบพืชที่ใช้ในการทดลอง

ชื่อเรียกทั่วไป	ชื่อเรียกวิทยาศาสตร์
ใบเสน่หัจฉรินทร์แดง	<i>H. rubescens</i>
ใบมะกรูด	<i>C. hystrix</i>
ใบตอง	<i>M. paradisiacal</i>
ใบมะม่วง	<i>M. indica</i>
ใบสน	<i>C. macrolepis</i>
ใบอินทนิล	<i>L. macrocarpa</i>
ใบตะแบก	<i>C. odorata</i>
ใบขี้เหล็ก	<i>C. siamea</i>
ใบเฟื่องฟ้า	<i>B. villeda</i>
ใบตำลึง	<i>C. grandis</i>
ใบสาวน้อยปะแป้ง	<i>D. picta</i>
ใบผีเสื้อ	<i>A. atlas</i>
ใบโศก	<i>P. longifolia</i>
ใบโพธิ์	<i>F. religiosa</i>
ใบหน้าวัว	<i>A. andraeanum</i>
ใบประดู่	<i>P. indicus</i>
ใบตีนเป็ด	<i>A. Scholaris</i>
ใบปลงทะเล	<i>A. aureum</i>

การเตรียมเบนซีนในการทดลอง

การทดลองเตรียมเบนซีนเริ่มต้น 20 ppm แล้วนำมาใส่โหลสุญญากาศ ที่มีปริมาตร 15.6 ลิตร โดยใช้ลูมิเนียมฟอสเฟตเป็นตัวรองรับตัวอย่าง จากนั้นปิดฝาโหลสุญญากาศ โดยใช้พาราฟินพันรอบโหลสุญญากาศ โดยภายในโหลสุญญากาศมีอุณหภูมิประมาณ 32 องศาเซลเซียส ความดัน 760 มิลลิกรัมปรอท ซึ่งอุณหภูมิ

และความดันสามารถใช้คำนวณความเข้มข้นมวลอากาศ (mole concentration) ได้ ดังสมการที่ 1 (Treesubstorn and Thiravetyan, 2012) และสามารถคำนวณหาปริมาตรที่จะใช้ในการฉีดเบนซีนใน โหลอากาศให้ได้ 20 ppm ดังสมการที่ 2 และ 3

$$M_c = 24.47 \times (760/P) \times (T+273.15)/298.15 \quad (1)$$

$$20 \text{ ppm} = 10^6 \times W/M_w \times M_c/V \quad (2)$$

$$\rho = W/V_b \quad (3)$$

M_c = ความเข้มข้นมวลอากาศ (โมล)

P = ความดัน (mmHg)

T = อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)

M_w = น้ำหนักโมลโมเลกุลของเบนซีน

V = ปริมาตรของโหลสุญญากาศ (15.6 ลิตร)

W = น้ำหนักของเบนซีน (g)

P = ความหนาแน่นของเบนซีน (g/ml)

V_b = ปริมาตรของเบนซีน (ml)

20 ppm เป็นปริมาณเบนซีนที่กำหนดในการทดลอง

โดยเบนซีนที่ใช้ในการทดลอง มีความบริสุทธิ์ 99.98% ซึ่งเมื่อกำหนดจากสมการที่ 1-3 แล้วพบว่า ต้องฉีดเบนซีน 1 ไมโครลิตรในโหลสุญญากาศ จึงจะทำให้เบนซีนในโหลสุญญากาศมีความเข้มข้น 20 ppm

การคัดกรองใบพืชเพื่อเป็นตัวดูดซับเบนซีนในระบบกะ(batch)

นำวัสดุดูดซับที่ซังเรียบร้อย 0.2 กรัม นำมาใส่โหลสุญญากาศโดยใช้ลูมิเนียมฟอยล์เป็นตัวรองรับ ปิด จากนั้นฝาโหลแล้วใช้พาราฟิน พันรอบฝาโหลและ หนีบขอบโหลด้วยคลิปหนีบตัวใหญ่โดยใช้กระดาษทิชชูรอง จากนั้นฉีดสารเบนซีน 1 μ l ซึ่งจะให้ค่าความเข้มข้นของเบนซีนภายในโหลเป็น 20 ppm จากนั้นทำการวัด ความเข้มข้นของเบนซีนทุกวันเป็นเวลา 3 วันโดยเครื่อง GC โดยการดูดเบนซีนภายในโหลสุญญากาศ 0.3 ml แล้วฉีดเข้าเครื่อง GC มีอุณหภูมิ injector 250 องศาเซลเซียส Detector 200 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 3.1 การทดลองในระบบบะ (batch) โดยทำในโหลสุญญากาศ

การวิเคราะห์เบนซีนด้วย GC

เก็บตัวอย่างเบนซีนในโหลสุญญากาศหลังจากการทดลองด้วยใบพืชแต่ละชนิด จำนวน 0.3 มิลลิลิตร เพื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC (Gas Chromatography, shimadzu 14 B) โดยหน่วยที่วิเคราะห์จะอยู่ในรูป ppm และความแตกต่างระหว่าง ปริมาณเบนซีนที่เหลืออยู่ในระบบควบคุม และ เบนซีนที่เหลืออยู่ที่บ้ำบัด แล้วโดยใช้ ใบไม้ชนิดต่างๆ คือ ปริมาณเบนซีนที่ใบพืชได้ดูดซับ (สมการที่ 4) และสามารถคำนวณได้ดังสมการที่ 5 1 (Treesubstorn and Thiravetyan, 2012)

$$\Delta\text{ppm} = \text{ppm}_{\text{control}} - \text{ppm}_{\text{treatment}} \quad (4)$$

$$W = \Delta\text{ppm} \times (V/M_C) \times (M_W/10^6) \quad (5)$$

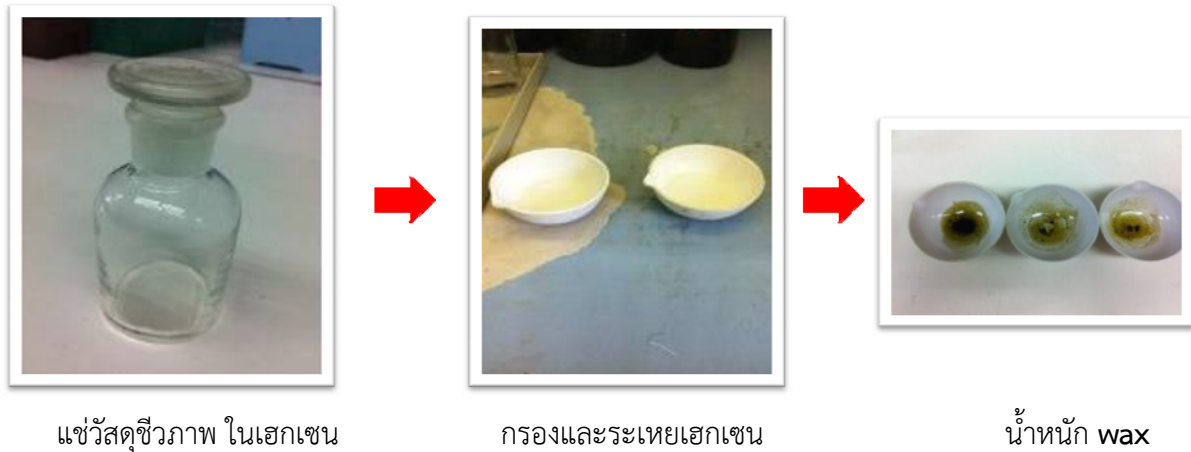
$\text{ppm}_{\text{control}}$ = ความเข้มข้นของเบนซินที่เหลืออยู่ในระบบควบคุม
 $\text{ppm}_{\text{treatment}}$ = ความเข้มข้นของเบนซินที่เหลืออยู่ที่บำบัดด้วยใบพีช
 M_c = ความเข้มข้นของมวลอากาศ
 M_w = มวลโมเลกุลเบนซิน
 W = น้ำหนักของเบนซินที่ถูกดูดซับด้วยใบพีช
 V = ปริมาตรของระบบ



ภาพที่ 3.2 เครื่อง GC (Gas Chromatography) สำหรับวัดปริมาณเบนซิน

การวัดปริมาณของแว็กซ์ (Wax)

นำใบไม้แห้งที่บดละเอียดเป็นผงแล้วมาชั่งปริมาณ 1 กรัม แล้วนำมาใส่ ขวดแก้วสุญญากาศ จากนั้นเติมเฮกเซนที่ตวง 50 ml ลงในขวดแก้วสุญญากาศแล้วนำไปแช่เย็นไว้ 1-2 วัน โดยใช้อุณหภูมิ ต่ำกว่า 4 องศาเซลเซียสทำการชั่งถ้วยเปล่าก่อนนำไปอบ 1 วัน จากนั้นพักกระดาษกรองให้เป็นจิบแล้วกรองเอาตะกอนออกเทสารสกัด ระเหยโดยใช้ไนโตรเจนระเหย hexane ใส่ถ้วยกระเบื้องที่อบเตรียมไว้ ทิ้งไว้ให้ wax นำไปอบอีก 1 วัน โดยใช้อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปใส่เครื่อง เดซิเคเตอร์ เพื่อให้เย็นแล้วนำไปชั่งเพื่อบันทึกค่า หลังอบ โดยใช้เครื่องชั่งทศนิยมสี่ตำแหน่ง



ภาพที่ 3.3 วิธีการสกัดแว็กซ์

การเตรียมตัวดูดซับเพื่อใช้ในการบำบัดเบนซินในระบบบำบัดแบบต่อเนื่อง

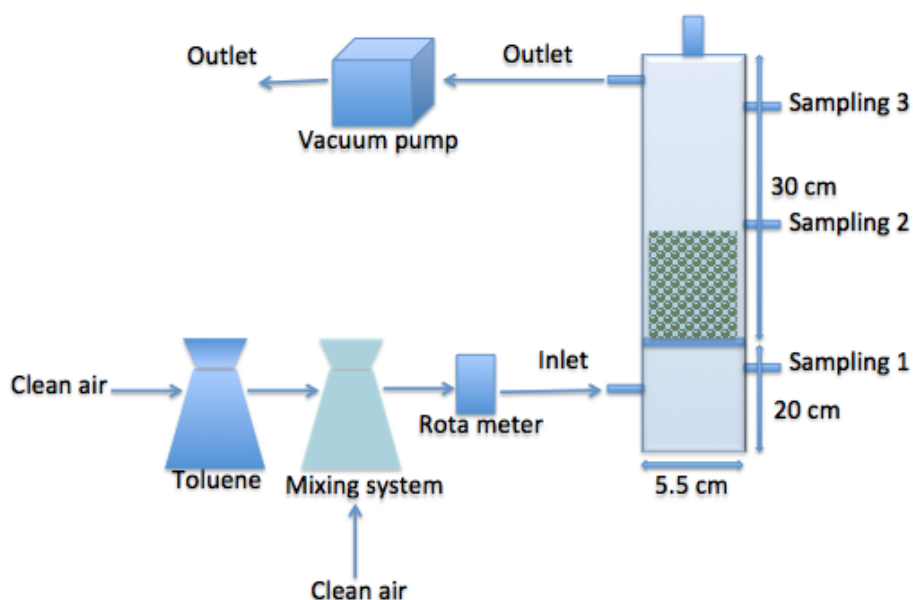
นำใบไม้ที่มีประสิทธิภาพสูง 5 ชนิด ได้แก่ *D. picta* (ใบสวาน้อยปะแป้ง) *F. religiosa* (ใบโพธิ์) *L. macrocarpa* (ใบอินทนิล) *A. scholaris* (ใบตีนเป็ด) และ *A. aureum* (ใบปลงทะเล) มาตัดเป็นชิ้นเล็ก และนำไปอบ ในเครื่องอบ Hot air oven ใช้อุณหภูมิ ที่ 60 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ 2 วันจนแห้งนำมาตำหรือนำไปบดในเครื่อง Ultra Centrifugal Mill ให้ละเอียด จากนั้นนำลูกแก้วขนาด 6 มิลลิเมตร มากลึงกับแบ่ง กาวแล้วนำวัสดุดูดซับที่บดแล้วมากลึงอีกครั้งก็นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน นำตัวดูดซับมาใส่คอลัมน์แก้ว โดยควบคุมน้ำหนักผงใบไม้ตัวดูดซับให้ได้น้ำหนัก 15 กรัมเท่าๆกัน



ภาพที่ 3.4 ตัวอย่างของใบไม้ที่ใช้ในการทดลองในระบบบำบัดเบนซินแบบต่อเนื่อง

ระบบบำบัดเบนซินด้วยใบพืชในระบบแบบต่อเนื่อง

การเดินระบบจะมีการควบคุมให้ ระยะเวลาการกักเก็บใบพืช 3 นาที อัตราการไหล 0.03-0.05 ลิตร / นาที ความสูงในส่วนของตัวดูดซับประมาณ 20 ซม.เส้นผ่าศูนย์กลาง 5.5 ซม.ความเข้มข้นเริ่มต้น 55 ppm จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างเบนซินในจุดเก็บตัวอย่างและนำไปวิเคราะห์เพื่อหาค่าความเข้มข้นของเบนซิน ก่อนและหลังบำบัด โดยการดูดเบนซินภายในโหลสุญญากาศ 0.3 ml แล้วฉีดเข้าเครื่อง GC มีอุณหภูมิ Injector 250 องศาเซลเซียส Detector 200 องศาเซลเซียส Oven 50 องศาเซลเซียส ทำการวิเคราะห์ผล



ภาพที่ 3.5 ระบบดูดซับแบบต่อเนื่องที่ใช้ในการศึกษา (จำลอง)



ภาพที่ 3.6 ระบบดูดซับแบบต่อเนื่องที่ใช้ในการศึกษา (ภาพจริง)

การแยกเบนซีนออกจากตัวดูดซับโดยเฮกเซน

หลังจากดูดซับเบนซีนในใบพีชด้วยระบบต่อเนื่องแล้ว จากนั้นนำตัวอย่าง 1 กรัม ถูกเก็บออกมาจากคอลัมน์และแช่ลงใน 50 ml ของ hexane ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 2 วัน จากนั้น สารสกัดถูกนำมากรองโดยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 2 สารสกัดที่ผ่านการกรองถูกนำไปเก็บไว้ในขวด vial ขนาด 1 ml ตัวอย่าง 0.5 μl ถูกนำไปวิเคราะห์ความเข้มข้นของเบนซีนที่ชะได้

การตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันบนผิวตัวดูดซับโดย FTIR

นำผงใบไม้ตัวอย่างทั้งก่อนและหลังบำบัดขนาดปลายซ็อนตักสารมาบดละเอียดอีกครั้งด้วยโกร่งบดยาชนิดพิเศษสำหรับเครื่อง FTIR ผสม KBR ที่ผ่านการอบไล่ความชื้นออกแล้ว 1 คีน ลงในโกร่งบดยา บดให้ตัวอย่างผสมกับ KBR เป็นเนื้อเดียว นำไปอัดเป็นเหรียญด้วยแรง 10 นิวตัน 5 นาทีนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง

FTIR โดยสแกนเลขคลื่นตั้งแต่ 400-4000 cm^{-1} ผลที่ได้นำมาเปรียบเทียบความแตกต่างของหมู่ฟังก์ชันบนผิวตัวดูดซับทั้งก่อนและหลังการบำบัด

สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

ทำการรายงานค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานโดยโปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 15 โดย Descriptive statistical analysis และเปรียบเทียบความแปรปรวนของกลุ่มตัวอย่างมากกว่า 2 กลุ่ม โดย ONE WAY ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จำแนกกลุ่มโดย Duncan multiple range test