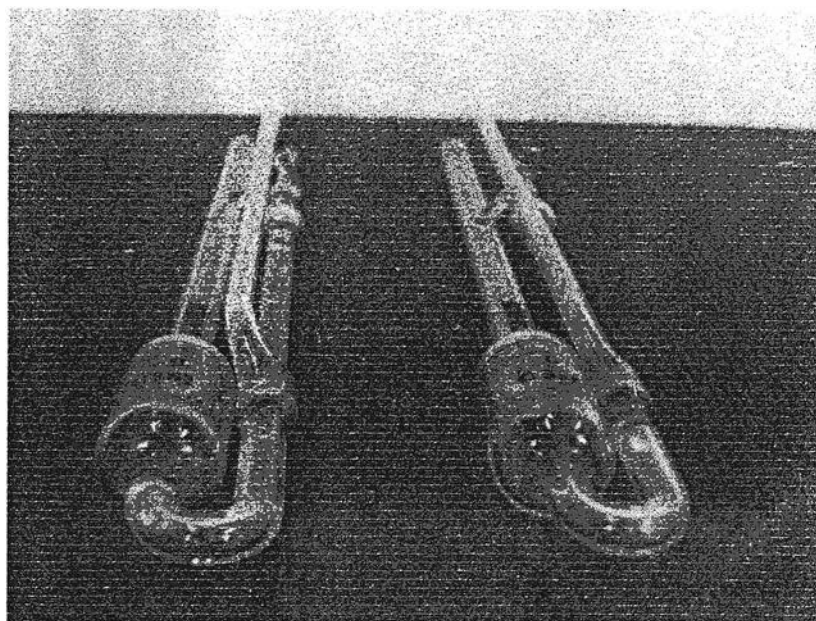


ต้นฉบับ หน้าขาดหาย

ต้นฉบับ หน้าขาดหาย



รูปที่ 3.1 Cannon Ubbelohde Viscometer

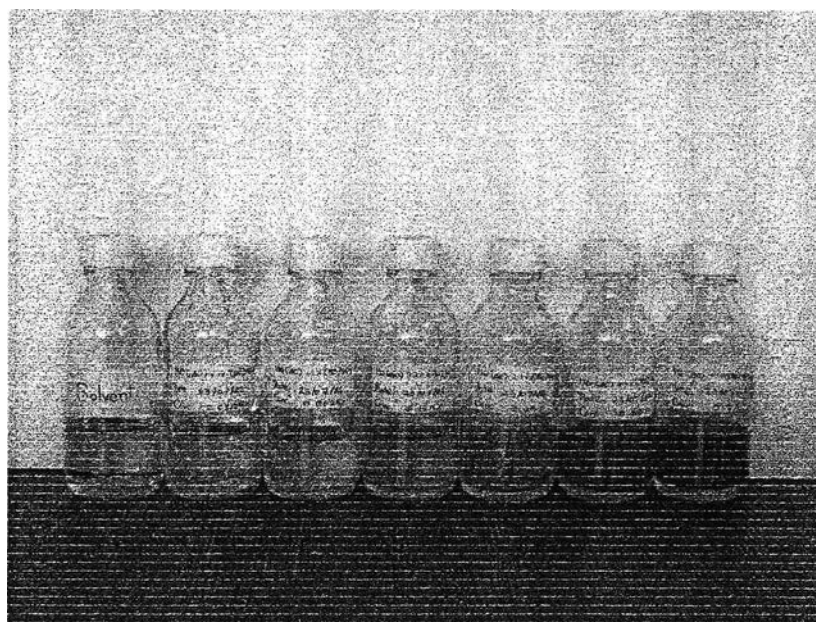
3.1.2 วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1.2.1 ชั่งสารโคโคซานมาตรฐาน 0.5 กรัม ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดอะซิติก 2.5% (w/v) ลงไป 5 มิลลิลิตร กวนให้เข้ากัน ได้เป็นโคโคซาน 10 %

3.1.2.2 ปรับความเข้มข้นโคโคซาน ในข้อ 3.1.2.1 ให้เป็น 1% ในสารละลาย ผสมระหว่างกรดอะซิติก 0.5 โมลาร์ และโซเดียมอะซิเตท 0.5 โมลาร์ โดยเติมกรดอะซิติก เข้มข้น 1.192 มิลลิลิตร เติมโซเดียมอะซิเตท 2.051 กรัม และเติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้ 1 คืน

3.1.2.3 เตรียม stock solution ของตัวทำละลายผสมระหว่างกรดอะซิติก 0.5 โมลาร์ และโซเดียมอะซิเตท 0.5 โมลาร์ จำนวน 1000 มิลลิลิตร

3.1.2.4 นำสารละลายโคโคซานที่ได้ในข้อ 3.1.2.2 มาเจือจางด้วย stock solution ของตัวทำละลาย ในข้อ 3.1.2.3 เพื่อให้ได้ความเข้มข้น 0.25, 0.125, 0.0625, 0.03125, 0.015625 เปอร์เซ็นต์ (g/100ml.) ความเข้มข้นละ 20 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดฝาเกลียว เขย่า และตั้งทิ้งไว้ 1 คืน และเท stock solution ของตัวทำละลายที่ใช้ในการเจือจาง ดังกล่าวข้างต้นใส่ขวดฝาเกลียวเตรียมไว้ 1 ขวด เพื่อใช้สำหรับทดลองในขั้นต่อไป สารตัวอย่าง ที่เจือจางที่ความเข้มข้นต่าง ๆ แสดงดังรูปที่ 3.2

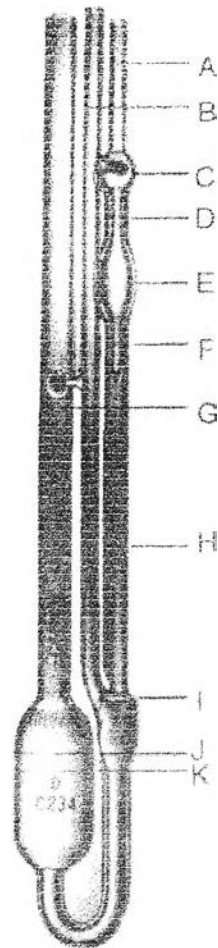


รูปที่ 3.2 สารละลายตัวอย่างโคโคซานที่เจือจางที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

3.1.2.5 นำ stock solution ที่เตรียมได้ 1 ขวด พร้อมกับสารโคโคซานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่เตรียมได้ในข้อ 3.1.2.4 แฉ่งลงใน water bath ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่ทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที^[58]

3.1.2.6 เตรียม water bath ใส สำหรับแช่ viscometer ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

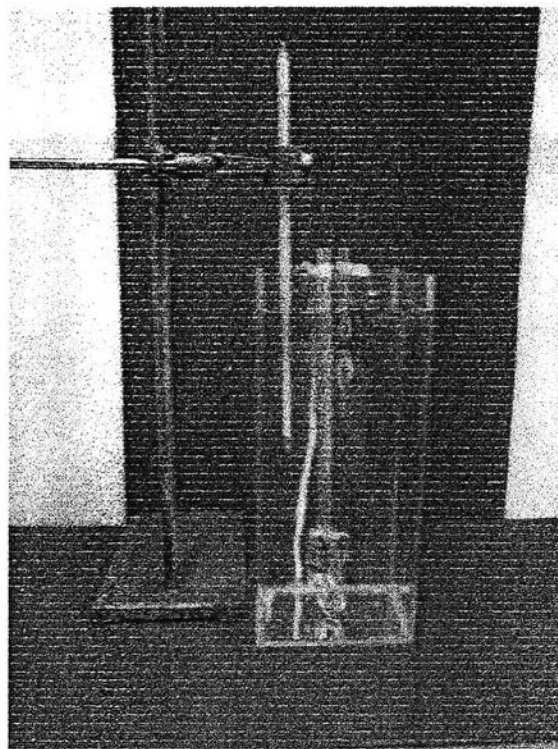
3.1.2.7 ตวง stock solution ของตัวทำละลาย (ซึ่งไม่มีสารโคโคซานละลายอยู่) ที่แช่อยู่ใน water bath ในข้อ 3.1.2.5 จำนวน 14 มิลลิลิตร เทลงใน viscometer ที่สะอาดตรงปลายด้าน G ตามรูปที่ 3.3



รูปที่ 3.3 ตำแหน่งต่าง ๆ ของ Ubbelohde Viscometer

3.1.2.8 นำ Ubbelohde Viscometer No.C361 ตั้งตรงใน water bath โดยใช้พลาสติกยึดไว้จัดให้ตั้งตรงในแนวตั้งฉาก แสดงดังรูปที่ 3.4

3.1.2.9 ใช้น้ำอุดตรงหลอด B และใช้ลูกยางดูดสารละลายขึ้นทางหลอด A ดูดสารละลายขึ้นมาจนถึงประมาณกลางกะเปราะ C เอาลูกยางออก ปล่ยนิ้วที่อุดไว้ สารละลายเริ่มไหลลงมา เมื่อสารละลายไหลมาถึงตำแหน่ง D เริ่มจับเวลา จนกระทั่งสารละลายผ่านมาถึงตำแหน่ง F จึงหยุดเวลา เวลาที่ได้คือ efflux time บันทึกเวลาไว้ และเริ่มทำการทดลองซ้ำในข้อ 3.1.2.9 นี้ซ้ำอีก 1 ซ้ำ เป็น efflux time ครั้งที่ 2 บันทึกเวลา คำนวณหาเวลาเฉลี่ยของการทดลอง 2 ซ้ำ



รูปที่ 3.4 ชุดทดลองหาน้ำหนักโมเลกุลโดย Ubbelohde viscometer

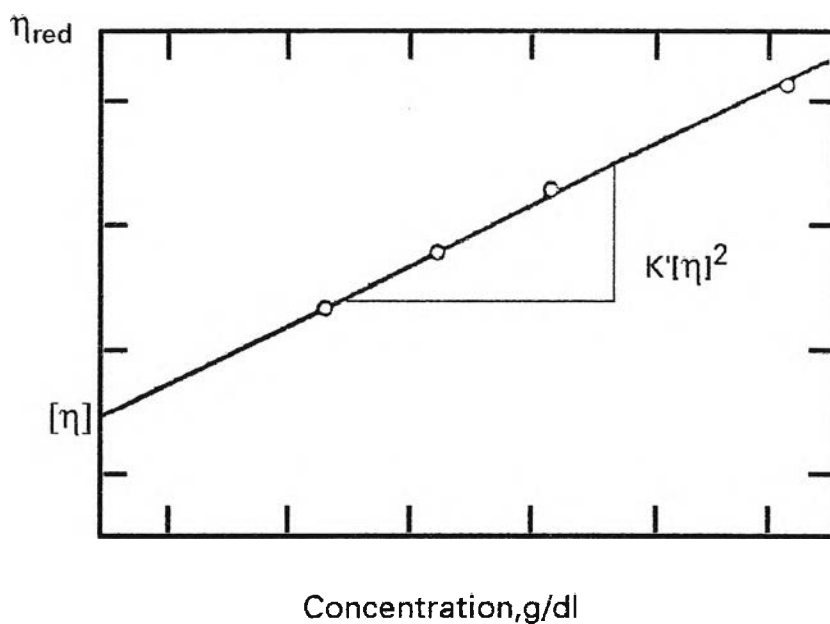
3.1.2.10 เทสารละลายออกจนหมดแล้วทำการทดลองซ้ำตั้งแต่ข้อ 3.1.2.7 โดยเปลี่ยนสารเป็นสารละลายโคโตะซานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยทดลองจากความเข้มข้นน้อยไปมาก จนครบทุกความเข้มข้น

3.1.2.11 Efflux time ที่ได้ นำมาคำนวณหาค่า specific viscosity (η_{sp}) และคำนวณหาค่า η_{sp}/C หรือค่า reduced viscosity (η_{red}) ตามสมการที่ 3.1 และ 3.2

$$\eta_{sp} = \frac{t - t_0}{t_0} \quad 3.1$$

$$\eta_{red} = \frac{\eta_{sp}}{C} \quad 3.2$$

3.1.2.12 ค่า reduced viscosity (η_{red}) ที่ได้จากการคำนวณ นำมาเขียนกราฟความสัมพันธ์กับค่าความเข้มข้นของสารละลายโคโตะซาน (C) ตัวอย่างดังรูปที่ 3.5



รูปที่ 3.5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายโคโตะซานและค่า reduced viscosity (η_{red})

3.1.2.13 จากกราฟเส้นตรงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น (C) กับค่า reduced viscosity (η_{red}) หาจุดตัดแกน y (y-intercept) ค่าจุดตัดที่ได้คือค่า intrinsic viscosity $[\eta]$

3.1.2.14 ค่า $[\eta]$ ที่ได้จากกราฟนำมาคำนวณหาน้ำหนักโมเลกุลของโคโตะซาน จากสมการของ Mark-Houwink ดังสมการที่ 3.3

$$[\eta] = KM_v^a \quad 3.3$$

เมื่อ K และ a เป็นค่าคงที่ ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของระบบตัวทำละลายที่เลือกใช้คือกรดอะซิติก 0.5 โมลาร์ กับโซเดียมอะซิเตท 0.5 โมลาร์ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1.99×10^{-3} (100 ml/g) และ 0.59 ตามลำดับ แทนค่า $[\eta]$, K และ a ที่ได้ลงในสมการที่ 3.3 สามารถคำนวณหาน้ำหนักโมเลกุล (Mv) หรือ Viscosity average molecular weight ได้

3.1.2.15 ทำความสะอาด viscosity ด้วยสารละลายทำความสะอาดที่ประกอบด้วย กรดซัลฟูริกเข้มข้น (H_2SO_4) กับโพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$) โดยใส่สารดังกล่าวใน viscometer ที่งัวประมาณ 1 คีน หรือหลาย ๆ ชั่วโมง⁽⁵⁸⁾

3.1.2.16 เทสารละลายทำความสะอาดออกแล้วล้างด้วยน้ำสะอาดหลาย ๆ ครั้ง แล้วกลั้วด้วยน้ำกลั่น 2-3 ครั้ง หลังจากนั้นกลั้วด้วยตัวทำละลายที่ใช้ในการทดลองข้างต้น 2-3 ครั้ง

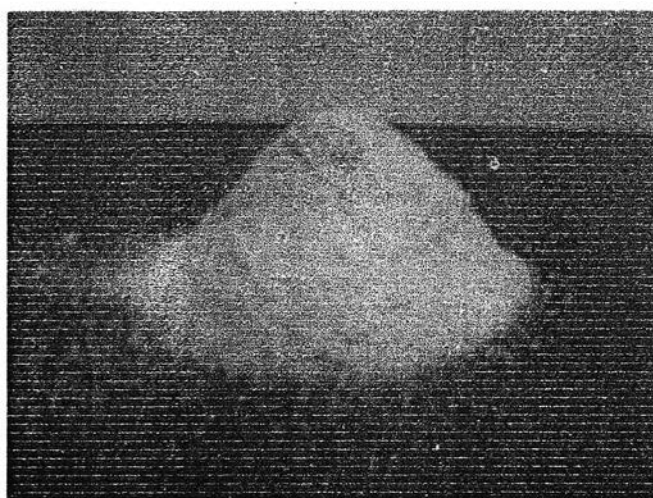
3.1.2.17 ทำการทดลองซ้ำตั้งแต่ข้อ 3.1.2.8 จนถึง 3.1.2.16 อีก 2 ซ้ำ

3.1.2.18 เปลี่ยน viscometer เป็น No.C356 แล้วทำการทดลองตั้งแต่ 3.1.2.1 จนจบ 3.1.2.17

3.2 การฉายรังสีสารตัวอย่างโคโตซาน

3.2.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

3.2.1.1 สารตัวอย่างโคโตซาน มีน้ำหนักโมเลกุลเริ่มต้นประมาณ 8×10^5 ถึง 1×10^6 มีค่าร้อยละของการดีอะเซทิลเลชัน (%DD) เท่ากับ 90 เปอร์เซ็นต์ ผลิตจากบริษัทเอ เอ็น แลป (A.N.Lab) จ.สมุทรสาคร สารตัวอย่างโคโตซานแสดงดังรูปที่ 3.6



รูปที่ 3.6 แสดงลักษณะของโคโตซานในสภาพของแข็ง

3.2.1.2 สารละลายกรดอะซิติก (CH_3COOH)

3.2.1.3 น้ำกลั่น

3.2.1.4 หลอดแก้ว พร้อมฝาจุกปิด

3.2.1.5 เทปกาวยใส

3.2.1.6 ขวดแก้วขนาดเล็ก สูงประมาณ 2.5 เซนติเมตร

3.2.1.7 แท่งพลาสติกยาวประมาณ 2 เซนติเมตร

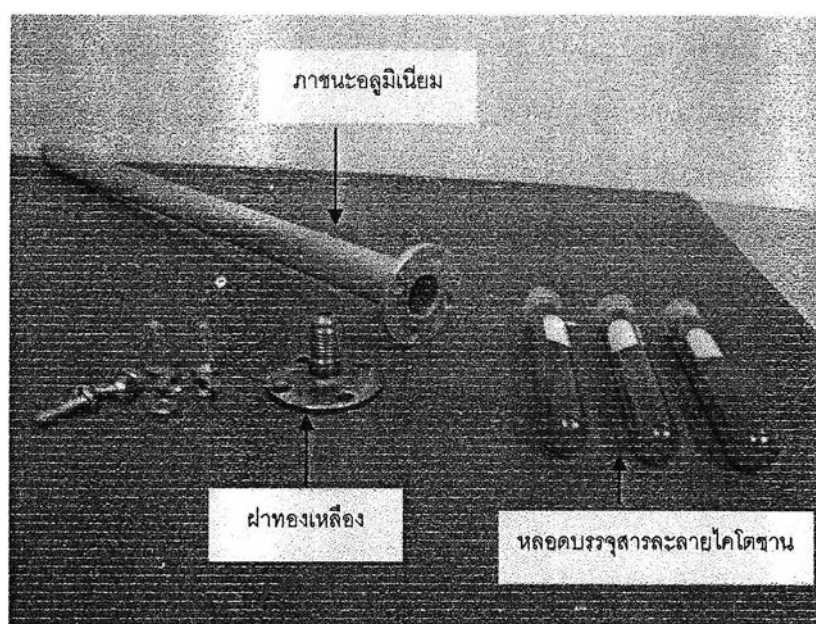
3.2.1.8 ปีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร

3.2.1.9 กระบอกตวง 100 มิลลิลิตร

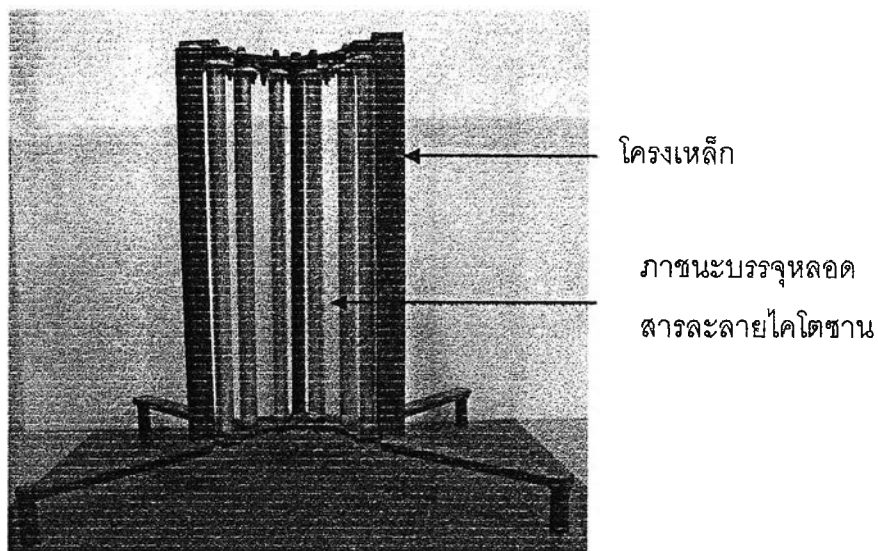
3.2.1.10 แ่งแก้ว

3.2.1.11 เครื่องชั่งอิเล็กทรอนิกส์

3.2.1.12 ชุดภาชนะบรรจุหลอดสารละลายโคโคซานสำหรับฉายรังสี ภาชนะบรรจุหลอดสารละลายโคโคซานทำด้วยอะลูมิเนียม มีช่องเปิดเพียงด้านเดียว ซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางภายในประมาณ 1.6 เซนติเมตร มีความยาวภายนอก 40 เซนติเมตร และความยาวภายใน 36.5 เซนติเมตร จำนวน 6 แ่ง ซึ่งแต่ละแ่งสามารถบรรจุหลอดทดลองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.2 เซนติเมตร ยาว 10.5 เซนติเมตร ได้ 3 หลอด และมีฝาทำจากทองเหลือง^[59] แสดงดังรูปที่ 3.7 โดยเมื่อฉายรังสีจะประกอบเป็นชุด มีโครงทำจากเหล็ก แสดงดังรูปที่ 3.8



รูปที่ 3.7 แสดงแ่งภาชนะบรรจุหลอดใส่สารละลายตัวอย่างโคโคซานสำหรับฉายรังสี

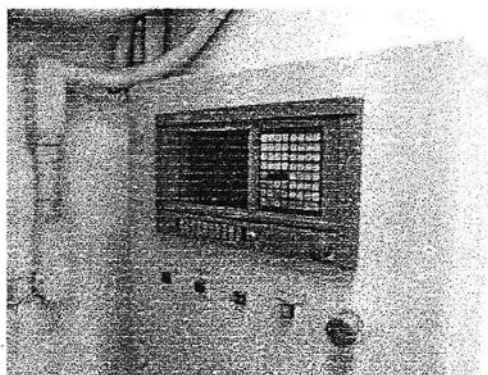


รูปที่ 3.8 แสดงชุดภาชนะบรรจุหลอดสารละลายโคโตซานสำหรับฉายรังสี

3.2.1.12 เครื่องฉายรังสีแกมมาจากโคบอลต์-60 จากบริษัท Institute of Isotope ประเทศอังกฤษ รุ่น BSV – 06 ของภาควิชานิวเคลียร์เทคโนโลยี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย แสดงดังรูปที่ 3.9



ภายในห้องเครื่องฉายรังสี



ส่วนควบคุมเครื่องฉายรังสี

รูปที่ 3.9 แสดงเครื่องฉายรังสีแกมมาจากแหล่งกำเนิดรังสีโคบอลต์-60

3.2.2 วิธีดำเนินการวิจัย

3.2.2.1 นำสารตัวอย่างโคโตซานซึ่งมีลักษณะเป็นของแข็ง ไปฉายรังสีที่ปริมาณรังสี 60 กิโลเกรย์ โดยมี Dose Rate เท่ากับ 2 กิโลเกรย์ต่อชั่วโมง

3.2.2.2 ซังสารตัวอย่างโคโตซานที่ผ่านการฉายรังสีในสภาพของแข็งที่ปริมาณรังสี 60 กิโลเกรย์แล้ว จำนวน 7.5 กรัม ละลายในสารละลายกรดอะซิติกความเข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์ 75 มิลลิลิตร เพื่อให้ได้สารละลายโคโตซาน 10 เปอร์เซ็นต์ คนให้เข้ากัน ทิ้งไว้เป็นเวลา 1 คืน

3.2.2.3 เทสารละลายโคโตซาน 10 เปอร์เซ็นต์ในสารละลายกรดอะซิติก 2 เปอร์เซ็นต์ลงในหลอดทดลองจำนวน 18 หลอด ปิดฝาและผนึกด้วยเทปกาวยใสให้แน่น

3.2.2.4 นำขวดขนาดเล็กที่เตรียมไว้ (ขวดเปล่า) ใส่ลงในแท่งภาชนะบรรจุในรูปที่ 3.7 แล้วนำหลอดที่บรรจุสารละลายโคโตซานใส่ตามลงไป 3 หลอดแล้วใส่ปิดทับต่อด้วยแท่งพลาสติก เพื่อเป็นการจัดให้หลอดสารละลายโคโตซาน 3 หลอดอยู่ในตำแหน่งกลางของแท่งภาชนะบรรจุพอดี หลังจากนั้นปิดด้วยฝาปิดและยึดด้วยน็อต ทำเช่นเดียวกันนี้จนครบ 6 แท่ง

3.2.2.5 นำแท่งภาชนะบรรจุทั้ง 6 แท่งไปยึดไว้กับโครงเหล็กตรงตามตำแหน่งต่าง ๆ

3.2.2.6 นำชุดภาชนะฉายรังสีไปตั้งที่ตำแหน่งซึ่งได้ทำการหาปริมาณรังสีไว้แล้วทั้ง 6 ตำแหน่ง ซึ่งแสดงในภาคผนวก ค^[59]

3.2.2.7 ทำการคำนวณเวลาที่ใช้สำหรับการฉายรังสีที่ปริมาณต่าง ๆ ที่กำหนดและกลับแท่งภาชนะบรรจุโดยกลับด้านล่างขึ้นด้านบนเมื่อเวลาผ่านไปครึ่งหนึ่งของเวลาที่ต้องใช้สำหรับการฉายรังสี เพื่อให้ตัวอย่างโคโตซานได้รับปริมาณรังสีทั่วถึง

3.2.2.8 ฉายรังสีที่สภาวะสารละลายปริมาณ 0, 10, 20, 30, 40, 60, 80, 100, 110 และ 120 กิโลเกรย์ ซึ่งมี Dose Rate ที่ 6 ตำแหน่งต่าง ๆ กันตามภาคผนวก ค^[59]

3.3 การหาน้ำหนักโมเลกุลของสารละลายตัวอย่างโคโตซาน

3.3.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

3.3.1.1 สารละลายตัวอย่างโคโตซาน 10 เปอร์เซ็นต์ในกรดอะซิติก 2.5 เปอร์เซ็นต์ ที่ผ่านการฉายรังสีที่ปริมาณต่าง ๆ ที่ต้องการ

3.3.1.2 สารตัวอย่างโคโตซานในสภาพของแข็งที่ผ่านการฉายรังสีที่ 60 kGy

3.3.1.3 กรดอะซิติกเข้มข้น (CH_3COOH) AR-grade

3.3.1.4 โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) AR-grade

3.3.1.5 น้ำกลั่น

3.3.1.6 บีกเกอร์ ขนาด 100 และ 250 มิลลิลิตร

3.3.1.7 กระบอกตวง ขนาด 10 และ 25 มิลลิลิตร

- 3.3.1.8 ปิเปต ขนาด 0.2, 1, 5 และ 10 มิลลิลิตร
- 3.3.1.9 Volumetric flask ขนาด 50, 250 และ 1000 มิลลิลิตร
- 3.3.1.10 แท่งแก้วทวนสาร
- 3.3.1.11 ขวดฝาเกลียว ขนาด 60 มิลลิลิตร
- 3.3.1.12 เครื่องชั่งอิเล็กทรอนิกส์ 3 ตำแหน่ง
- 3.3.1.13 สารละลายทำความสะอาด Viscometer ($H_2SO_4+K_2Cr_2O_7$)
- 3.3.1.14 Cannon-Ubbelohde Viscometer
- 3.3.1.15 Water bath ใส ขนาด 13×17 เซนติเมตร
- 3.3.1.16 Water bath สำหรับแช่สารตัวอย่าง
- 3.3.1.17 เทอร์โมมิเตอร์
- 3.3.1.18 ขาดังพร้อมที่จับเทอร์โมมิเตอร์
- 3.3.1.19 แท่งพลาสติกสำหรับยึดจับ viscometer
- 3.3.1.20 ลูกยางสำหรับดูดสารละลาย

3.3.2 ขั้นตอนดำเนินงานวิจัย

- 3.3.2.1 เตรียมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ จำนวน 250 มิลลิลิตร
- 3.3.2.2 เตรียมสารละลายกรดอะซิติก 0.584 โมลาร์ จำนวน 100 มิลลิลิตร
- 3.3.2.3 ใช้ปิเปตดูดสารละลายตัวอย่างโคโคซาน 10 เปอร์เซ็นต์ ในสารละลายกรดอะซิติก 2.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งผ่านการฉายรังสีแล้ว จำนวน 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร
- 3.3.2.4 เติมสารละลายกรดอะซิติก 0.584 โมลาร์ที่เตรียมไว้ในข้อ 3.3.2.2 จำนวน 5 มิลลิลิตร ลงในสารตัวอย่าง
- 3.3.2.5 เติมหั่นลงไปจำนวน 20 มิลลิลิตร
- 3.3.2.6 เติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 1 โมลาร์ที่เตรียมไว้ในข้อ 3.3.2.1 จำนวน 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในสารตัวอย่าง
- 3.3.2.7 ปรับปริมาตรสารตัวอย่างโคโคซานให้เป็น 50 มิลลิลิตร จะได้สารตัวอย่างโคโคซานความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ในระบบตัวทำละลาย 0.1 โมลาร์ของกรดอะซิติก และ 0.2 โมลาร์ ของโซเดียมคลอไรด์
- 3.3.2.8 ทิ้งสารที่เตรียมไว้เป็นเวลา 1 คืน

3.3.2.9 เตรียม stock solution ของตัวทำละลาย กรดอะซิติก 0.1 โมลาร์ และโซเดียมคลอไรด์ 0.2 โมลาร์ จำนวน 1000 มิลลิลิตร

3.3.2.10 เจือจางสารละลายโคโคซาน 1 เปอร์เซ็นต์ ด้วยตัวทำละลายในข้อ 3.3.2.9 เพื่อให้ได้ความเข้มข้น 0.75, 0.50, 0.25, 0.125, 0.0625 และ 0.03125 เปอร์เซ็นต์ (g/100ml) ความเข้มข้นละ 20 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดฝาเกลียวขนาด 60 มิลลิลิตร พร้อมทั้งเตรียมตัวทำละลายใส่ลงในขวดไว้ 1 ขวด ด้วย ทั้งสารละลายที่เจือจางแล้วเป็นเวลา 1 คืน

3.3.2.11 นำไปหาน้ำหนักโมเลกุลตามขั้นตอนและวิธีการ เช่นเดียวกับการหาน้ำหนักโมเลกุลของสารโคโคซานมาตรฐานตั้งแต่ข้อ 3.1.2.5 จนจบ โดยเปลี่ยนค่าคงที่ K และ α ที่ใช้ในการคำนวณหาค่าน้ำหนักโมเลกุลตามสมการ Mark-Houwink เป็น 1.81×10^{-5} dL/g และ 0.93 ตามลำดับ

3.3.2.12 หาน้ำหนักโมเลกุลจนครบทุกตัวอย่างที่ผ่านการฉายรังสีที่ปริมาณต่างๆ

3.3.2.13 สำหรับการเตรียมสารละลายโคโคซานที่ฉายรังสีในสภาพของแข็งที่ 60 kGy เพื่อทำการทดสอบหาน้ำหนักโมเลกุล โดยการเตรียมเป็นสารละลายโคโคซาน 10 เปอร์เซ็นต์(w/v) ในสารละลายกรดอะซิติก 2.5 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 1 คืน แล้วทำตามขั้นตอนข้อ 3.3.2.4 จนจบข้อ 3.3.2.11

3.4 การแยกโมเลกุลลำดับส่วนโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 40,000 ดอลตัน

3.4.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

- 3.4.1.1 ปีกเกอร์
- 3.4.1.2 กระบอกตวง
- 3.4.1.3 ปีเปต
- 3.4.1.4 แท่งแก้ว
- 3.4.1.5 เครื่องเหินทรีฟิวส์ (Centrifuge)
- 3.4.1.6 หลอดใส่สารสำหรับเหินทรีฟิวส์
- 3.4.1.7 กระดาษตรวจจสอบ pH
- 3.4.1.8 ถาดแก้ว
- 3.4.1.9 เครื่องกวนสารแบบแม่เหล็กไฟฟ้า
- 3.4.1.10 เครื่องชั่งอิเล็กทรอนิกส์ 3 ตำแหน่ง
- 3.4.1.11 ที่ดูดความชื้น (Desiccators)
- 3.4.1.12 น้ำกลั่น
- 3.4.1.13 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)
- 3.4.1.14 อะซิโตน AR Grade
- 3.4.1.15 สารละลายโคโตซานที่ผ่านการฉายรังสีที่ 60+30 kGy

3.4.2 ขั้นตอนดำเนินงานวิจัย (จากสภาวะ c) ตารางที่ 3.2

3.4.2.1 การแยกครั้งที่ 1

1. ตวงสารละลายโคโตซานที่ฉายรังสีที่ 60+30 kGy จำนวน 20 มิลลิลิตร ลงในปีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร
2. เติมน้ำกลั่นลงไป 50 มิลลิลิตร กวนด้วยเครื่องกวนแบบแม่เหล็กไฟฟ้า
3. ค่อย ๆ เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (w/v) จำนวน 10 มิลลิลิตร ลงไปในสารละลายโคโตซาน ขณะที่กวนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า
4. กวนด้วยเครื่องกวนแบบแม่เหล็กไฟฟ้าเป็นเวลาประมาณ 5 นาที
5. ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

ชั่วโมง

ครั้งที่ 2 ต่อไป

6. นำสารละลายโคโตซานที่มีตะกอนเกิดขึ้นไปเซ็นทริฟิวส์เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
7. รินหรือดูดเอาสารละลายด้านบนออกใส่ในบีกเกอร์เพื่อรอการแยกครั้งที่ 2 ต่อไป
8. สำหรับตะกอนที่ได้จากการแยกครั้งที่ 1 นำมาล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่น 4-5 ครั้ง จนกว่าจะมีค่า pH เป็นกลาง
9. เทตะกอนออกทิ้งไว้ให้แห้ง
10. นำตะกอนไปใส่ใน Desiccators เพื่อดูความชื้น
11. ชั่งตะกอนที่ได้เพื่อหา % yield
12. นำตะกอนที่ได้ไปหาน้ำหนักโมเลกุลโดยใช้ Viscometer โดยใช้ตัวทำละลายกรดอะซิติก 0.1 โมลาร์ และโซเดียมคลอไรด์ 0.2 โมลาร์ ตามขั้นตอนการหาน้ำหนักโมเลกุลในข้อ 3.3

3.4.2.2 การแยกครั้งที่ 2

1. สำหรับสารละลายด้านบนนำมาตกตะกอนต่อโดยเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 20 มิลลิลิตร ลงไปขณะที่ยกวนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า และกวนทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที
2. ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
3. นำสารละลายโคโตซานที่มีตะกอนเกิดขึ้นไปเซ็นทริฟิวส์เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
4. รินหรือดูดเอาสารละลายด้านบนออก
5. สำหรับตะกอนที่ได้จากการแยกครั้งที่ 2 นำมาล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่น 4-5 ครั้ง จนกว่าจะมีค่า pH เป็นกลาง
6. เทตะกอนออกทิ้งไว้ให้แห้ง
7. นำตะกอนไปใส่ใน Desiccators เพื่อดูความชื้น
8. ชั่งตะกอนที่ได้เพื่อหา % yield
9. ตะกอนที่ได้นำมาหาน้ำหนักโมเลกุลด้วย Viscometer โดยใช้ตัวทำละลายกรดอะซิติก 0.1 โมลาร์ และโซเดียมคลอไรด์ 0.2 โมลาร์ ตามขั้นตอนการหาน้ำหนักโมเลกุลในข้อ 3.3

3.4.2.3 ปฏิบัติตามขั้นตอนการแยกน้ำหนักรังสีตามลำดับส่วนของสารละลายโคโคซานที่ฉายรังสีที่ 60+30 kGy ตามสภาวะต่าง ๆ ตามตารางที่ 3.1, 3.2 และ 3.3 โดยปฏิบัติตามขั้นตอนดังที่กล่าวมาในข้อ 3.4.2.1 และ 3.4.2.2 (เฉพาะสภาวะที่ X Y และ Z ตามตารางที่ 3.1 ที่ทำการแยกเพียงครั้งเดียว)

ตารางที่ 3.1 แสดงการทดลองผลของความเข้มข้นของสารละลายไฮเดรอกไซด์ที่มีต่อการตกตะกอนของสารละลายโคโตซานที่ฉายรังสีที่ 60+30 kGy (เพื่อแยกโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 40,000 ดอลตัน)

สภาวะ ที่	การแยกครั้งที่ 1							การแยกครั้งที่ 2					
	สารละลาย โคโตซาน (ml.)	น้ำกลั่น (ml.)	ความ เข้มข้น NaOH (%)	ปริมาตร 1%NaOH (ml.)	pH	เวลาที่ ทิ้งไว้ (ชั่วโมง)	ผลที่ เกิดขึ้น	สารละลาย ตั้งต้น	ความ เข้มข้น NaOH (%)	ปริมาตร 1%NaOH (ml.)	pH	เวลาที่ ทิ้งไว้ (ชั่วโมง)	ผลที่ เกิดขึ้น
U	20	50	0.75	30	7	1	$W_{U1} + S_{U1}$	S_{U1}	1	30	14	1	$W_{U2} + S_2$
X	20	50	1	30	14	1	$W_{X1} + S_{X1}$	-	-	-	-	-	-
Y	20	50	2	30	14	1	$W_{Y1} + S_{Y1}$	-	-	-	-	-	-
Z	20	50	4	30	14	1	$W_{Z1} + S_{Z1}$	-	-	-	-	-	-

W_{U1} W_{X1} W_{Y1} W_{Z1} คือ ตะกอนที่ได้จากการแยกครั้งที่ 1 จากการทดลองที่สภาวะ U X Y และ Z ตามลำดับ

W_{U2} คือ ตะกอนที่ได้จากการแยกครั้งที่ 2 จากการทดลองที่สภาวะ U

S_{U1} S_{X1} S_{Y1} S_{Z1} คือ สารละลายส่วนบนหลังจากทำการแยกครั้งที่ 1 จากการทดลองที่สภาวะ U X Y และ Z ตามลำดับ

S_{U2} คือ สารละลายส่วนบนหลังจากทำการแยกครั้งที่ 2 จากการทดลองที่สภาวะ U

ตารางที่ 3.2 แสดงการทดลองแยกน้ำหนักรวมของสารละลายโคโตซานที่ฉายรังสีที่ 60+30 kGy (เพื่อแยกโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 8,000 ดอลตัน) ด้วย 1%NaOH โดยควบคุมปริมาตรของ 1%NaOH ที่ใช้เติมในการแยกครั้งที่ 1 เท่ากับ 10 มิลลิลิตร (เท่ากันทุกสภาวะ) และเปลี่ยนแปลงปริมาตรของ 1%NaOH ที่ใช้เติมในการแยกครั้งที่ 2 ที่สภาวะ a b c และ d เท่ากับ 5, 10, 20 และ 30 มิลลิลิตร ตามลำดับ

สภาวะที่	การแยกครั้งที่ 1						การแยกครั้งที่ 2				
	สารละลายโคโตซาน (ml.)	น้ำกลั่น (ml.)	ปริมาตร 1% NaOH (ml.)	pH	เวลาที่ทิ้งไว้ (ชั่วโมง)	ผลที่เกิดขึ้น	สารละลายตั้งต้น	ปริมาตร 1%NaOH (ml)	pH	เวลาที่ทิ้งไว้ (ชั่วโมง)	ผลที่เกิดขึ้น
a	20	50	10	5-6	1	$W_{a1} + S_{a1}$	S_{a1}	5	5	1	$W_{a2} + S_{a2}$
b	20	50	10	5-6	1	$W_{b1} + S_{b1}$	S_{b1}	10	5-6	1	$W_{b2} + S_{b2}$
c	20	50	10	5-6	1	$W_{c1} + S_{c1}$	S_{c1}	20	5-6	1	$W_{c2} + S_{c2}$
d	20	50	10	5-6	1	$W_{d1} + S_{d1}$	S_{d1}	30	6-7	1	$W_{d2} + S_{d2}$

W_{a1} W_{b1} W_{c1} W_{d1} คือ ตะกอนที่ได้จากการแยกครั้งที่ 1 จากการทดลองที่สภาวะ a b c และ d ตามลำดับ

W_{a2} W_{b2} W_{c2} W_{d2} คือ ตะกอนที่ได้จากการแยกครั้งที่ 2 จากการทดลองที่สภาวะ a b c และ d ตามลำดับ

S_{a1} S_{b1} S_{c1} S_{d1} คือ สารละลายส่วนบนหลังจากทำการแยกครั้งที่ 1 จากการทดลองที่สภาวะ a b c และ d ตามลำดับ

S_{a2} S_{b2} S_{c2} S_{d2} คือ สารละลายส่วนบนหลังจากทำการแยกครั้งที่ 2 จากการทดลองที่สภาวะ a b c และ d ตามลำดับ

ตารางที่ 3.3 แสดงการทดลองแยกน้ำหนักรีดิวต์ของสารละลายโคโตซานที่ฉายรังสีที่ 60+30 kGy (เพื่อแยกโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 8,000 ดอลตัน) ด้วย 1%NaOH โดยควบคุมปริมาตรของ 1%NaOH ที่ใช้เติมในการแยกครั้งที่ 1 เท่ากับ 15 มิลลิลิตร (เท่ากันทุกสภาวะ) และเปลี่ยนแปลงปริมาตรของ 1%NaOH ที่ใช้เติมในการแยกครั้งที่ 2 ที่สภาวะ A B C และ D เท่ากับ 5, 10, 20 และ 30 มิลลิลิตร ตามลำดับ

สภาวะที่	การแยกครั้งที่ 1						การแยกครั้งที่ 2				
	สารละลายโคโตซาน (ml.)	น้ำกลั่น (ml.)	ปริมาตร 1% NaOH (ml.)	pH	เวลาที่ทิ้งไว้ (ชั่วโมง)	ผลที่เกิดขึ้น	สารละลายตั้งต้น	ปริมาตร 1%NaOH (ml)	pH	เวลาที่ทิ้งไว้ (ชั่วโมง)	ผลที่เกิดขึ้น
A	20	50	15	5	1	$W_{A1} + S_{A1}$	S_{A1}	5	6	1	$W_{A2} + S_{A2}$
B	20	50	15	5	1	$W_{B1} + S_{B1}$	S_{B1}	10	8	1	$W_{B2} + S_{B2}$
C	20	50	15	5	1	$W_{C1} + S_{C1}$	S_{C1}	20	14	1	$W_{C2} + S_{C2}$
D	20	50	15	5	1	$W_{D1} + S_{D1}$	S_{D1}	30	14	1	$W_{D2} + S_{D2}$

W_{A1} W_{B1} W_{C1} W_{D1} คือ ตะกอนที่ได้จากการแยกครั้งที่ 1 จากการทดลองที่สภาวะ A B C และ D ตามลำดับ

W_{A2} W_{B2} W_{C2} W_{D2} คือ ตะกอนที่ได้จากการแยกครั้งที่ 2 จากการทดลองที่สภาวะ A B C และ D ตามลำดับ

S_{A1} S_{B1} S_{C1} S_{D1} คือ สารละลายส่วนบนหลังจากทำการแยกครั้งที่ 1 จากการทดลองที่สภาวะ A B C และ D ตามลำดับ

S_{A2} S_{B2} S_{C2} S_{D2} คือ สารละลายส่วนบนหลังจากทำการแยกครั้งที่ 2 จากการทดลองที่สภาวะ A B C และ D ตามลำดับ

3.5 การแยกโมเลกุลลำดับส่วนโคโตซานที่ฉายรังสีที่ 60+110 kGy เพื่อแยกโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 8,000 ดอลตัน

3.5.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

- 3.5.1.1 ปีกเกอร์
- 3.5.1.2 กระจกตวง
- 3.5.1.3 ปิเปต
- 3.5.1.4 แท่งแก้ว
- 3.5.1.5 เครื่องเซ็นทริฟิวส์
- 3.5.1.6 หลอดใส่สารสำหรับเซ็นทริฟิวส์
- 3.5.1.7 กระดาษตรวจสอบ pH
- 3.5.1.8 ถาดแก้ว
- 3.5.1.9 เครื่องกวนสารแบบแม่เหล็กไฟฟ้า
- 3.5.1.10 เครื่องชั่งอิเล็กทรอนิกส์ 3 ตำแหน่ง
- 3.5.1.11 ที่ดูดความชื้น (Desiccators)
- 3.5.1.12 น้ำกลั่น
- 3.5.1.13 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)
- 3.5.1.14 อะซิโตน AR Grade
- 3.5.1.15 สารละลายโคโตซานที่ผ่านการฉายรังสีที่ 60+110 kGy

3.5.2 ขั้นตอนในการดำเนินงานวิจัย

3.5.2.1 การแยกครั้งที่ 1

1. ตวงสารละลายโคโตซานที่ผ่านการฉายรังสีที่ 60+110 kGy จำนวน 40 มิลลิลิตร ใส่ลงในปีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร
2. เติมน้ำกลั่นลงไปจำนวน 100 มิลลิลิตร
3. กวนให้เข้ากันด้วยเครื่องกวนแบบแม่เหล็กไฟฟ้า
4. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ลงไปจำนวน 40 มิลลิลิตร ขณะที่กวนด้วยเครื่องกวนแบบแม่เหล็กไฟฟ้า
5. กวนทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที
6. ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1 วัน
7. นำสารละลายที่ตกตะกอนไปเซ็นทริฟิวส์เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

8. แยกเอาส่วนที่เป็นสารละลายด้านบนออก เพื่อเก็บไว้สำหรับการแยกครั้งที่ 2 ต่อไป
9. ล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่นประมาณ 4-5 ครั้ง จนค่า pH เป็นกลาง
 10. เทตะกอนออก และทิ้งไว้ให้แห้ง
 11. ชูดตะกอนที่ได้ แล้วนำไปใส่ใน Desiccators เพื่อดูความชื้น
 12. ชั่งตะกอนที่ได้หา % yield
 13. นำตะกอนที่ได้ไปหาน้ำหนักโมเลกุลโดยใช้ Viscometer โดยใช้ตัวทำละลายกรดอะซิติก 0.1 โมลาร์ และโซเดียมคลอไรด์ 0.2 โมลาร์ ตามขั้นตอนการหาน้ำหนักโมเลกุลในข้อ 3.2

3.5.2.2 การแยกครั้งที่ 2

1. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 เปอร์เซนต์ จำนวน 40 มิลลิลิตร ลงในสารละลายด้านบนจากการแยกครั้งที่ 1 ขณะกวนด้วยเครื่องกวนแบบแม่เหล็กไฟฟ้า
2. กวนทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที
3. หลังจากนั้นตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 10 วัน
4. แยกส่วนที่เป็นสารละลายด้านบนออก แล้วเก็บตะกอนไว้
5. ล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่นประมาณ 4-5 ครั้ง จนค่า pH เป็นกลาง
6. เทตะกอนออก และทิ้งไว้ให้แห้ง
7. ชูดตะกอนที่ได้ แล้วนำไปใส่ใน Desiccators เพื่อดูความชื้น
8. ชั่งตะกอนที่ได้หา % yield
9. นำตะกอนที่ได้ไปหาน้ำหนักโมเลกุลโดยใช้ Viscometer โดยใช้ตัวทำละลายกรดอะซิติก 0.1 โมลาร์ และโซเดียมคลอไรด์ 0.2 โมลาร์ ตามขั้นตอนการหาน้ำหนักโมเลกุลในข้อ 3.3

3.5.2.3. ปฏิบัติตามการทดลองข้างต้น แต่เปลี่ยนปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 เปอร์เซนต์ที่เติม จากการแยกครั้งที่ 1 ข้อ 4 เป็น 45, 50 และ 60 มิลลิลิตร ตามลำดับ และปฏิบัติขั้นตอนอื่น ๆ เช่นเดียวกับที่กล่าวมาข้างต้น (สรุปขั้นตอนการทดลองแสดงในตารางที่ 3.4)

ตารางที่ 3.4 แสดงการทดลองแยกน้ำหนักรีดน้ำหนักโมเลกุลลำดับส่วนของสารละลายโคโตซานที่ฉายรังสีที่ 60+110 kGy (เพื่อแยกโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 8,000 ดอลตัน) โดยเปลี่ยนแปลงปริมาตรของ 1%NaOH ในการแยกครั้งที่ 1 ในสภาวะที่ 1, 2, 3 และ 4 เป็น 40, 45, 50 และ 60 มิลลิลิตร ตามลำดับ และควบคุมการตกตะกอนในการแยกครั้งที่ 2 ให้เหมือนกันทุกสภาวะ

สภาวะที่	การแยกครั้งที่ 1						การแยกครั้งที่ 2				
	สารละลายโคโตซาน (ml.)	น้ำกลั่น (ml.)	ปริมาตร 1% NaOH (ml.)	pH	เวลาที่ทิ้งไว้ (วัน)	ผลที่เกิดขึ้น	สารละลายตั้งต้น	ปริมาตร 1%NaOH (ml)	pH	เวลาที่ทิ้งไว้ (วัน)	ผลที่เกิดขึ้น
1	40	100	40	7	1	$W_{11} + S_{11}$	S_{11}	40	14	10	$W_{12} + S_{12}$
2	40	100	45	8	1	$W_{21} + S_{21}$	S_{21}	40	14	10	$W_{22} + S_{22}$
3	40	100	50	8	1	$W_{31} + S_{31}$	S_{31}	40	14	10	$W_{32} + S_{32}$
4	40	100	60	9	1	$W_{41} + S_{41}$	S_{41}	40	14	10	$W_{42} + S_{42}$

W_{11} W_{21} W_{31} W_{41} คือ ตะกอนที่ได้จากการแยกครั้งที่ 1 จากการทดลองที่สภาวะ 1 2 3 และ 4 ตามลำดับ

W_{12} W_{22} W_{32} W_{42} คือ ตะกอนที่ได้จากการแยกครั้งที่ 2 จากการทดลองที่สภาวะ 1 2 3 และ 4 ตามลำดับ

S_{11} S_{21} S_{31} S_{41} คือ สารละลายส่วนบนหลังจากทำการแยกครั้งที่ 1 จากการทดลองที่สภาวะ 1 2 3 และ 4 ตามลำดับ

S_{12} S_{22} S_{32} S_{42} คือ สารละลายส่วนบนหลังจากทำการแยกครั้งที่ 2 จากการทดลองที่สภาวะ 1 2 3 และ 4 ตามลำดับ