

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุ สารเคมี และอุปกรณ์

3.1.1 สารเคมี

บริษัทผู้ผลิตและเกรดที่เลือกใช้ของสารเคมีสำหรับการโกลโคลิซิสพอลิแล็กติกแอซิด การเชื่อมต่อโซ่ของผลิตภัณฑ์โกลโคไลซ์ และการวิเคราะห์สมบัติของผลิตภัณฑ์ที่ได้ (ตารางที่ 3.1)

ตารางที่ 3.1 บริษัทผู้ผลิตและเกรดของสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

สารเคมี	รายละเอียด
1. พอลิแล็กติกแอซิด (Polylactic acid ; PLA)	NatureWorks® PLA polymer 4042D
2. เอทิลีนไกลคอล (Ethylene glycol ; EG)	LAB-SCAN® AR grade
3. เมทิลีนไดฟีนิลไดไอโซไซยานาต (4,4'-Methylene diphenyl diisocyanate; MDI)	Sigma-Aldrich® AR grade
4. คลอโรฟอร์ม (Chloroform)	LAB-SCAN® AR grade
5. เมทานอล (Methanol)	LAB-SCAN® commercial grade
6. เอทานอล (Ethanol)	LAB-SCAN® AR grade
7. โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (Potassium hydroxide; KOH)	Merck® grade for analysis
8. โพแทสเซียมไฮโดรเจนฟทาเลต (Potassium hydrogen phthalate; KHP; $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$)	Carlo Erba ® grade for analysis

3.1.2 วัสดุและอุปกรณ์

1. บั้มสุญญากาศ (Vacuum pump) ยี่ห้อ Welch
2. เครื่องให้ความร้อนชนิดควบคุมอุณหภูมิและปรับความเร็วรอบในการกวนได้ (Hot plate) ยี่ห้อ Corning รุ่น PC-220
3. แท่งกวนแม่เหล็ก (Magnetic bar)
4. ชุดเครื่องแก้วสำหรับการสังเคราะห์ ประกอบด้วย
 - 4.1 ชุดควบแน่น (Condenser)
 - 4.2 ขวดก้นกลม 2 คอ (2-necks round bottom flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร
 - 4.3 ขวดก้นกลม (Round bottom flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร
 - 4.4 ข้อต่อรูปตัววาย
 - 4.5 ข้อต่อนำแก๊ส
5. เครื่องกวนสาร (Mechanical Overhead Stirrers) ยี่ห้อ Heidolph รุ่น RZR 2051 control
6. เครื่องชั่งไฟฟ้า Mettler Toledo PB 3002
7. ตู้อบสุญญากาศ (Vacuum oven) ยี่ห้อ BINDER รุ่น VD23
8. ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 250 และ 100 มิลลิลิตร
9. กระบอกตวง (Graduated Cylinder) ขนาด 100 มิลลิลิตร
10. บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 100 250 และ 500 มิลลิลิตร
11. กระดาษกรอง (Filter paper circle) ยี่ห้อ Whatman เบอร์ 4 และเบอร์ 40
12. กรวยกรอง (Buchner funnel)
13. หลอดหยด (Dropper)
14. แท่งแก้วคนสาร (Stirring rod)
15. บิวเรต (Burette)
16. ปิเปต (Pipette)
17. เครื่องขึ้นรูปแบบอัด (Compression molding)

3.2 เครื่องมือวิเคราะห์

1. Nuclear magnetic resonance (NMR) ยี่ห้อ Bruker Biospin รุ่น DPX-300
2. Gel Permeation Chromatography (GPC) รุ่น Waters e2695 separations modules
3. Thermogravimetric Analysis (TGA) ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น TG/SDTA851e
4. Differential Scanning Calorimeter (DSC) ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น DSC 1
5. Dynamic Mechanical Analyzer (DMA) ยี่ห้อ METTLER TOLEDO รุ่น DMA861°

3.3 วิธีการทดลอง

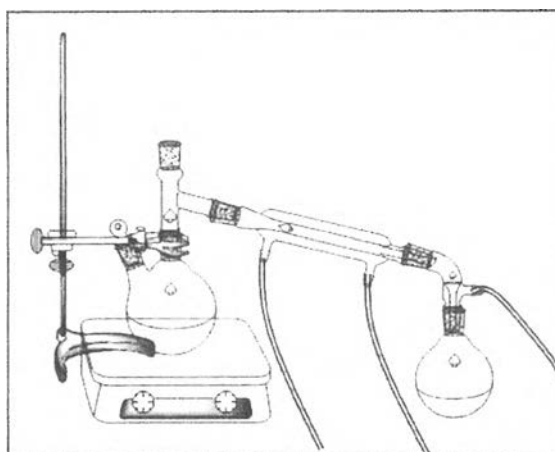
3.3.1 การสังเคราะห์ผลิตภัณฑ์ไกลโคไลซ์จากพอลิแล็กติกแอซิด

เตรียมผลิตภัณฑ์ไกลโคไลซ์โดยปรับเปลี่ยนปริมาณรวมของสารตั้งต้น อัตราส่วนของเอทิลีนไกลคอลต่อพอลิแล็กติกแอซิด อุณหภูมิ และเวลาในการทำปฏิกิริยา ดังแสดงในตารางที่ 3.2 และ 3.3

บรรจุเม็ดพอลิแล็กติกแอซิดและเอทิลีนไกลคอลในขวดก้นกลม 2 คอ แล้วติดตั้งชุดควบแน่นและข้อต่อ นำแก๊สไนโตรเจนดังรูปที่ 3.1 ก่อนเริ่มปฏิกิริยาใช้ปั๊มสุญญากาศ (vacuum pump) ดูดอากาศภายในขวดออก หลังจากนั้นปิดปั๊มสุญญากาศ แล้วปล่อยแก๊สไนโตรเจนเข้าสู่ระบบผ่านท่อ นำแก๊สและให้ความร้อนกับของผสมจนถึงอุณหภูมิที่กำหนด พร้อมทั้งกวนด้วยแท่งแม่เหล็กหรือเครื่องกวนสาร (ในกรณีที่เพิ่มปริมาณ) ตลอดเวลา ด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที หลังจากปฏิกิริยาไกลโคไลซิสดำเนินไปครบตามระยะเวลา จึงหยุดปฏิกิริยาโดยปิดเครื่องให้ความร้อน (hot plate) แล้วเปิดปั๊มสุญญากาศเพื่อควบแน่นเอทิลีนไกลคอลที่เหลื้อออกจากผลิตภัณฑ์ ภายหลังจากเสร็จสิ้นปฏิกิริยานำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปตกตะกอนในน้ำหรือเมทานอลซึ่งก็คือผลิตภัณฑ์ไกลโคไลซ์ โดย

กรณีใช้น้ำเป็นตัวกลาง หลังเสร็จสิ้นปฏิกิริยาเทผลิตภัณฑ์ลงในอ่างน้ำเย็น นำตะกอนผลิตภัณฑ์ไกลโคไลซ์ไปอบให้แห้งในตู้อบสุญญากาศที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

กรณีใช้เมทานอลเป็นตัวกลาง รอให้ผลิตภัณฑ์เย็น จากนั้นละลายในคลอโรฟอร์ม แล้วตกตะกอนในเมทานอล แล้วจึงนำตะกอนผลิตภัณฑ์ไกลโคไลซ์ไปอบไล่ความชื้นในตู้อบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง



รูปที่ 3.1 อุปกรณ์ในการทำปฏิกิริยาไกลโคไลซิส

ตารางที่ 3.2 ภาวะที่ใช้ในปฏิกิริยาไกลโคไลซิสของพอลิแล็กติกแอซิด

EG:PLA (โดยน้ำหนัก)	ปริมาณ PLA ทางการค้า (กรัม)	ปริมาณ รวม (กรัม)	อุณหภูมิ (°C)			เวลา (นาที)		
			175	185	195	30	60	90
0.5:1	20	30	✓	-	-	✓ *	-	-
1:1	20	40	✓	✓	✓	✓ *	✓	✓
3:1	20	80	✓	-	-	✓ *	-	-

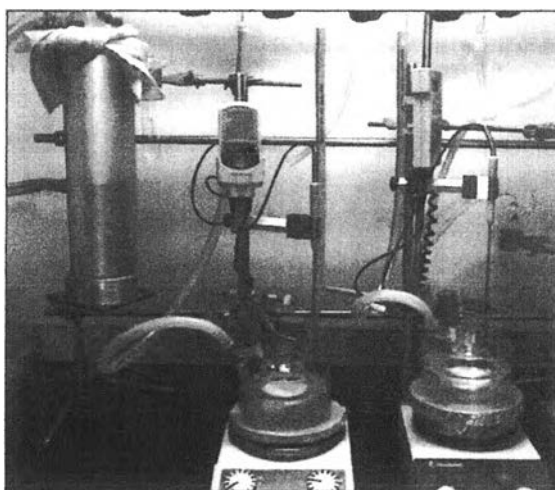
* ศึกษาอิทธิพลของตัวกลางในการทำให้ผลิตภัณฑ์บริสุทธิ์ โดยตกตะกอนในน้ำเปรียบเทียบกับเมทานอล

ตารางที่ 3.3 ภาวะที่ใช้ในปฏิกิริยาไกลโคไลซิสของพอลิแล็กติกแอซิด (เพิ่มปริมาณรวม)

EG:PLA (โดยน้ำหนัก)	ปริมาณ PLA ทางการค้า (กรัม)	ปริมาณ รวม (กรัม)	อุณหภูมิ (°C)			เวลา (นาที)		
			175	185	195	30	60	90
0.5:1	200	300	✓	-	-	✓	✓	-
0.75:1	200	350	✓	-	-	-	✓	-
1:1	150	300	-	-	✓	✓	-	✓
1.5:1	120	300	✓	-	-	-	✓	-
1.5:1	200	500	✓	-	-	-	✓	-

3.3.2 การเชื่อมต่อโซ่ของผลิตภัณฑ์ไกลโคไลซ์ของพอลิเล็กทิกแอซิด

เติมผลิตภัณฑ์ไกลโคไลซ์ (ปริมาณ 5 กรัม) และสารเชื่อมต่อโซ่ชนิดเมทิลีนไดฟีนิล ไดไอโซไซยาเนต (methylene diphenyl diisocyanate; MDI) ที่มีอัตราส่วนของ OH:NCO ตามที่กำหนดลงในขวดก้นกลม เมื่ออุณหภูมิในอ่างน้ำมันสูงถึงที่กำหนด (ตารางที่ 3.4) ให้ติดตั้งเครื่องแก้วสำหรับทำปฏิกิริยาเชื่อมต่อโซ่ภายใต้สุญญากาศดังรูป 3.2 เมื่อของผสมทั้งหมดหลอมจึงเริ่มนับเวลาตามที่กำหนดไว้ในตารางที่ 3.4 จากนั้นรอให้ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการเชื่อมต่อโซ่เย็น แล้วจึงนำไปทำให้บริสุทธิ์โดยละลายในคลอโรฟอร์มแล้วตกตะกอนในเมทานอล สุดท้ายนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปอบไล่ความชื้นในตู้อบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง



รูปที่ 3.2 อุปกรณ์ในการทำปฏิกิริยาการเชื่อมต่อโซ่

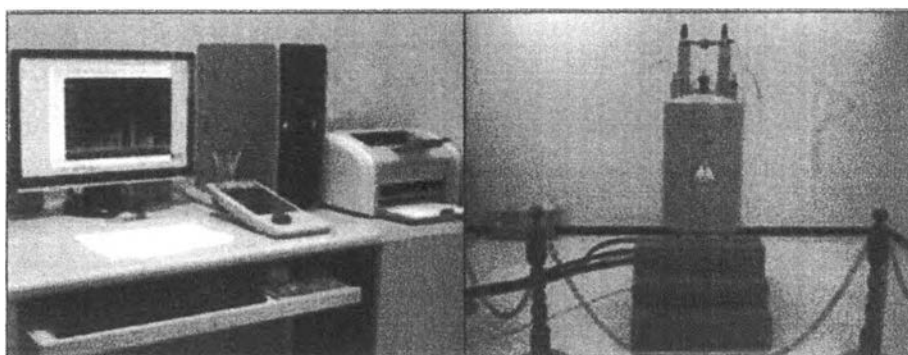
ตารางที่ 3.4 อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในปฏิกิริยาการเชื่อมต่อโซ่ของผลิตภัณฑ์ไกลโคไลซ์ที่เตรียมได้

ภาวะที่	เวลา (นาที) ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ				
	175 °C	185 °C	195 °C	200 °C	210 °C
1	10	-	-	-	-
2	30	-	-	-	-
3	60	-	-	-	-
4	10	20	-	-	-
5	10	10	10	-	-
6	-	10	20	-	-
7	-	-	-	10	-
8	-	-	-	-	10

3.4 การวิเคราะห์สมบัติผลิตภัณฑ์ที่สังเคราะห์ได้

3.4.1 การวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีด้วยเทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ (NMR)

ตรวจสอบโครงสร้างทางเคมีของผลิตภัณฑ์โกลโคไลซ์จากพอลิแล็กติกแอซิดและผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการเชื่อมต่อโซ่ โดยเครื่อง Proton Nuclear Magnetic Resonance ($^1\text{H-NMR}$) รุ่น Bruker Biospin DPX-300 NMR spectrometer (รูปที่ 3.3) ทั้งนี้เตรียมตัวอย่างโดยละลายสารตัวอย่างใน chloroform-d แล้วทำการวิเคราะห์ด้วยความถี่ 300 MHz ที่อุณหภูมิห้อง

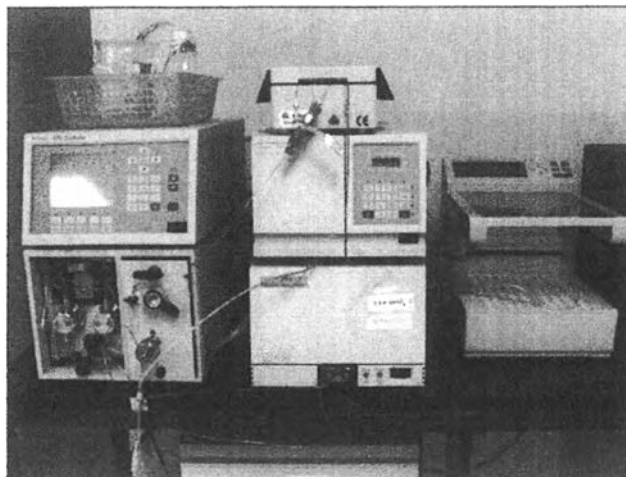


รูปที่ 3.3 เครื่อง Nuclear Magnetic Resonance (NMR) (Bruker Biospin DPX-300)

3.4.2 การวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยด้วยเทคนิคเจลเพอมีเอชันโครมาโทกราฟี (GPC)

วิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนัก (M_w) น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยจำนวน (M_n) และค่า การกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุล (PDI) ของผลิตภัณฑ์โกลโคไลซ์จากพอลิแล็กติกแอซิดและผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการเชื่อมต่อโซ่ ที่สามารถละลายในตัวทำละลายเตตระไฮโดรฟูแรน (Tetrahydrofuran; THF) ด้วยเครื่อง GPC รุ่น Waters e2695 (รูปที่ 3.4) ซึ่งมี 2 วิธีในการตรวจวัด กรณีใช้ตัวตรวจวัด (detector) ชนิดเดียวคือ Viscotek model 3580 (refractive index) เรียกวิธีนี้ว่า Conventional ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้กันทั่วไป หากใช้ตัวตรวจวัดสองชนิดคือ Viscotek model 270 (differential visometer) และ Viscotek model 3580 (refractive index) วิธีนี้เรียกว่า Universal โดยที่ทั้ง 2 วิธีใช้พอลิสไตรีนมาตรฐานที่มีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 4,490 ถึง 1,112,000 เป็นตัวอ้างอิงสารสำหรับสร้างกราฟมาตรฐาน (reference chromatogram) อย่างไรก็ตามเนื่องจากค่าที่คำนวณด้วยวิธีทั้งสองค่อนข้างต่างกันมาก (ภาคผนวก ก.) ดังนั้นในการศึกษาจึงเลือกใช้ค่าจากวิธี conventional ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานที่เครื่อง GPC ทั่วไปและส่วนใหญ่สามารถวิเคราะห์ได้

ตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์เตรียมโดยละลายสารตัวอย่าง 10 มิลลิกรัม ในเตตระไฮโดรฟิวแรน 5 มิลลิลิตร จากนั้นกรองเพื่อเอาฝุ่นออกด้วยเยื่อไนลอน 66 ที่มีความละเอียด 45 ไมครอน แล้วฉีดสารตัวอย่างปริมาตร 50 ไมโครลิตร เข้าเครื่อง GPC และใช้เตตระไฮโดรฟิวแรนเป็นเฟสเคลื่อนที่ที่มีอัตราเร็วในการไหล (flow rate) 1 มิลลิลิตรต่อนาที ประมวลผลด้วยโปรแกรม Empower ใช้เวลาทดสอบ 40 นาที

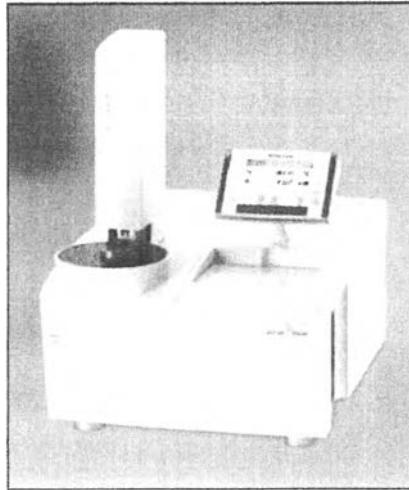


รูปที่ 3.4 เครื่อง Gel permeation chromatograph (GPC) (Waters e2695 separations modules)

3.4.3 การวิเคราะห์สมบัติทางความร้อนด้วยเทคนิคพีเพอร์เรนเซียสแกนนิ่งแคลลอริเมทรี (DSC)

วิเคราะห์อุณหภูมิเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (glass transition temperature, T_g) และอุณหภูมิหลอมเหลวของผลึก (melting temperature, T_m) ของผลิตภัณฑ์ที่สังเคราะห์ขึ้นตามข้อ 3.3.1-3.3.2 ด้วยเครื่อง DSC (รูปที่ 3.5)

บรรจุสารตัวอย่างประมาณ 5 มิลลิกรัมใน aluminium pan ขนาด 40 ไมโครลิตร แล้วทดสอบโดยให้ความร้อนจากอุณหภูมิ -20 ถึง 200 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราการให้ความร้อน 20 องศาเซลเซียสต่อนาที ภายใต้บรรยากาศไนโตรเจน คงอุณหภูมิไว้ที่ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที แล้วจึงลดอุณหภูมิด้วยอัตราการให้ความเย็น 20 องศาเซลเซียสต่อนาที เมื่ออุณหภูมิลดลงถึง -20 องศาเซลเซียส ให้คงอุณหภูมิไว้เป็นเวลา 1 นาที แล้วให้ความร้อนกลับไปอีกครั้ง โดยใช้ภาวะในการทดสอบเช่นเดียวกับการให้ความร้อนในขั้นตอนแรก



รูปที่ 3.5 เครื่อง Differential Scanning Calorimeter (Mettler Toledo DSC822^e)

3.4.4 การวิเคราะห์เสถียรภาพทางความร้อนด้วยเทคนิคเทอร์โมกราวิเมตริกแอนาไลซิส (TGA)

วิเคราะห์เสถียรภาพทางความร้อนของผลิตภัณฑ์โกลโคไลซ์ที่เตรียมจากพอลิแล็กติกแอซิดและผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการเชื่อมต่อโซ่ เปรียบเทียบกับสารตั้งต้นแต่ละชนิดก่อนทำปฏิกิริยาโกลโคไลซิสด้วยเครื่อง TGA (รูปที่ 3.6) โดยตรวจสอบความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละน้ำหนักของสารที่เปลี่ยนแปลงไปกับอุณหภูมิในการทดสอบ

บรรจุสารที่ต้องการวิเคราะห์ในเบ้าหลอมอะลูมินา (alumina crucible) ให้มีน้ำหนักที่ใกล้เคียงกันคือประมาณ 10 มิลลิกรัม แล้วกำหนดให้เพิ่มอุณหภูมิตั้งแต่ 50 ถึง 1000 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราการให้ความร้อน 20 องศาเซลเซียสต่อนาที ภายใต้บรรยากาศออกซิเจน



รูปที่ 3.6 เครื่อง Thermogravimetric Analysis (TGA) (METTLER TOLEDO®, SDTA 851e)

3.4.5 การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพด้วยเทคนิคไดนามิกแมคคานิคอล แอนนาไลเซอ์ (DMA)

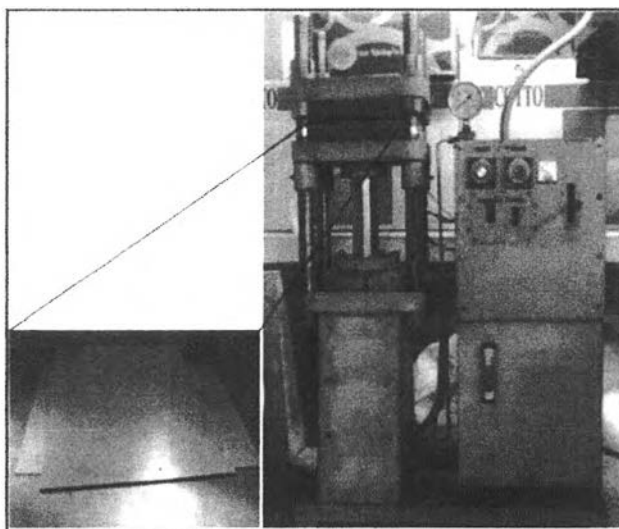
- การเตรียมแผ่นฟิล์มชิ้นงานโดยขึ้นรูปพอลิเมอร์เป็นฟิล์มด้วยเครื่อง compression molding (รูปที่ 3.7) โดยเติมพอลิเมอร์ประมาณ 0.5 กรัม บนแผ่น plate ที่หุ้มด้วยอลูมิเนียมฟอยด์ เพื่อป้องกันชิ้นงานติด และเพื่อให้ได้ฟิล์มที่มีผิวเรียบ นำแผ่น plate อีกรันมาประกบแล้วนำไปเข้าเครื่อง compression molding ขั้นตอนการทำงานของเครื่องแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นที่ 1 ให้ความร้อนก่อนอัด (preheat) พอลิเมอร์ผสมแต่ละชนิดที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 450 วินาที เพื่อให้พอลิเมอร์หลอมจนหมดก่อนทำการอัด

ขั้นที่ 2 ทำการอัดพอลิเมอร์ด้วยอุณหภูมิที่เท่ากับขั้นที่ 1 ด้วยความดัน 50 psi เป็นเวลาประมาณ 30 วินาที

ขั้นที่ 3 ทำการอัดซ้ำ 2 ครั้ง เป็นเวลารวม 30 วินาที เพื่อให้พอลิเมอร์ไหลตัวได้ดีขึ้น และเพื่อไล่ความชื้นและอากาศออก

นำแผ่น plate ออกจากเครื่อง compression molding วางทิ้งไว้ให้เย็นประมาณ 5 นาที แกะฟิล์มที่ได้ออกจากฟอยล์แล้วเก็บไว้ในตู้ควบคุมความชื้นเพื่อนำไปทดสอบสมบัติเชิงกลต่อไป



รูปที่ 3.7 เครื่อง compression molding และ แผ่น plate ที่ใช้เตรียมฟิล์ม

- ตัดแผ่นฟิล์มที่เตรียมได้ ขนาดประมาณ 5.8×10.5 มิลลิเมตร เพื่อนำไปทดสอบด้วยเครื่อง DMA (รูปที่ 3.8) โดยการให้แรงแบบ tension ช่วงอุณหภูมิที่ใช้ทดสอบคือ 0 ถึง 150 องศาเซลเซียส ทั้งนี้ในการทดสอบจะทำให้การให้ความร้อนด้วยอัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียสต่อนาที และทดสอบด้วยความถี่ 1 Hz



รูปที่ 3.8 เครื่อง Dynamic Mechanical Analyzer (DMA) METTLER TOLEDO DMA861^e