

ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง

ในการศึกษาวัสดุซิลิกา-เจลนาโนคอมโพสิตเพื่อเป็นพาหะสำหรับตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพ ได้แบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนแรกจะเป็นการศึกษานาภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์วัสดุซิลิกา-เจลนาโนคอมโพสิต โดยการศึกษาตัวแปรต่าง ๆ ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่างในวัฏภาคสารละลายน้ำที่ใช้ในการสังเคราะห์ อัตราส่วนเชิงโมลของน้ำต่อเตตระอีทอกซิซิลีนและปริมาณเจลนาโนที่ใช้ในการสังเคราะห์ ในขั้นตอนที่ 2 จะศึกษาถึงความเป็นไปได้ในการตรึงเอนไซม์บนวัสดุซิลิกา-เจลนาโนคอมโพสิตโดยการตรึงเอนไซม์ไลเปส ทดสอบความสามารถในการทำงานของเอนไซม์และทดสอบความเสถียรของเอนไซม์

5.1 ภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์วัสดุซิลิกา-เจลนาโนคอมโพสิต

เนื่องจากวัสดุซิลิกา-เจลนาโนคอมโพสิตที่ศึกษาโดย Watzke และ Dieschbourg (1994) (โดยใช้ภาวะ AOT 250 mM $W_0 = 30$ TMOS HCl 0.1 M น้ำ และเจลนาโน 1.7 %โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ถูกสังเคราะห์ในเบื้องต้นจากการหลอมเหลวของ MBGs ด้วยการให้ความร้อนตามด้วยการเติม TEOS ลงในระบบเพื่อชักนำให้เกิดกระบวนการไซล-เจล ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสและคอนเดนเซชันจะเกิดขึ้นภายในโครงข่ายของนาโนเจลที่ภาวะการไหลซึม (a percolation network of nanogel droplets) วัสดุที่สังเคราะห์ได้พบว่ามีสมบัติดังนี้คือ เจลมีพูนสูง ไม่ละลายน้ำ เสถียรต่อความร้อนและตัวทำละลายอินทรีย์ ซึ่งสมบัติเหล่านี้เป็นคุณลักษณะจำเพาะของตัวพุงที่ดีสำหรับการตรึงเอนไซม์ วัสดุพุงที่มีความพูนสูงจะสามารถลดความต้านทานอันเนื่องมาจากวัสดุพุงต่อการถ่ายเทมวลระหว่างวัฏภาคของสารตั้งต้นและผลิตภัณฑ์ให้ต่ำลงได้ ทำให้การแพร่ของสารตั้งต้นเข้าไปจับกับเอนไซม์ได้สะดวก และวัสดุพุงที่มีความพูนสูงยังจะส่งผลให้พื้นที่ผิวในการแลกเปลี่ยนมวลสารระหว่างวัฏภาคสูงขึ้นด้วย ความเสถียรตัวในน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์เป็นผลมาจากโครงข่ายของซิลิกาที่เสถียร ทำให้เอนไซม์ถูกกักอยู่อย่างเสถียรภายในเมตริกซ์เจลและไม่สูญเสียไปกับสายซาออกจากถังปฏิกรณ์ อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้ใช้ TEOS เป็นสารตั้งต้นในการเกิดกระบวนการไซล-เจล ดังนั้นเพื่อให้ได้วัสดุซิลิกา-เจลนาโนคอมโพสิตที่มีสมบัติดังกล่าว ภาวะที่เหมาะสม(ค่าความเป็นกรด-ด่าง อัตราส่วนเชิงโมลของน้ำต่อ TEOS และปริมาณเจลนาโน) ในการสังเคราะห์วัสดุซิลิกา-เจลนาโนคอมโพสิตย่อมเปลี่ยนแปลงไป การมุ่งลักษณะของซิลิกา-เจลนาโนคอมโพสิตที่สังเคราะห์ในงานวิจัยนี้อาศัยเทคนิค SEM เพื่อศึกษาลักษณะโครงสร้างของพื้นผิวภายนอกของตัว-

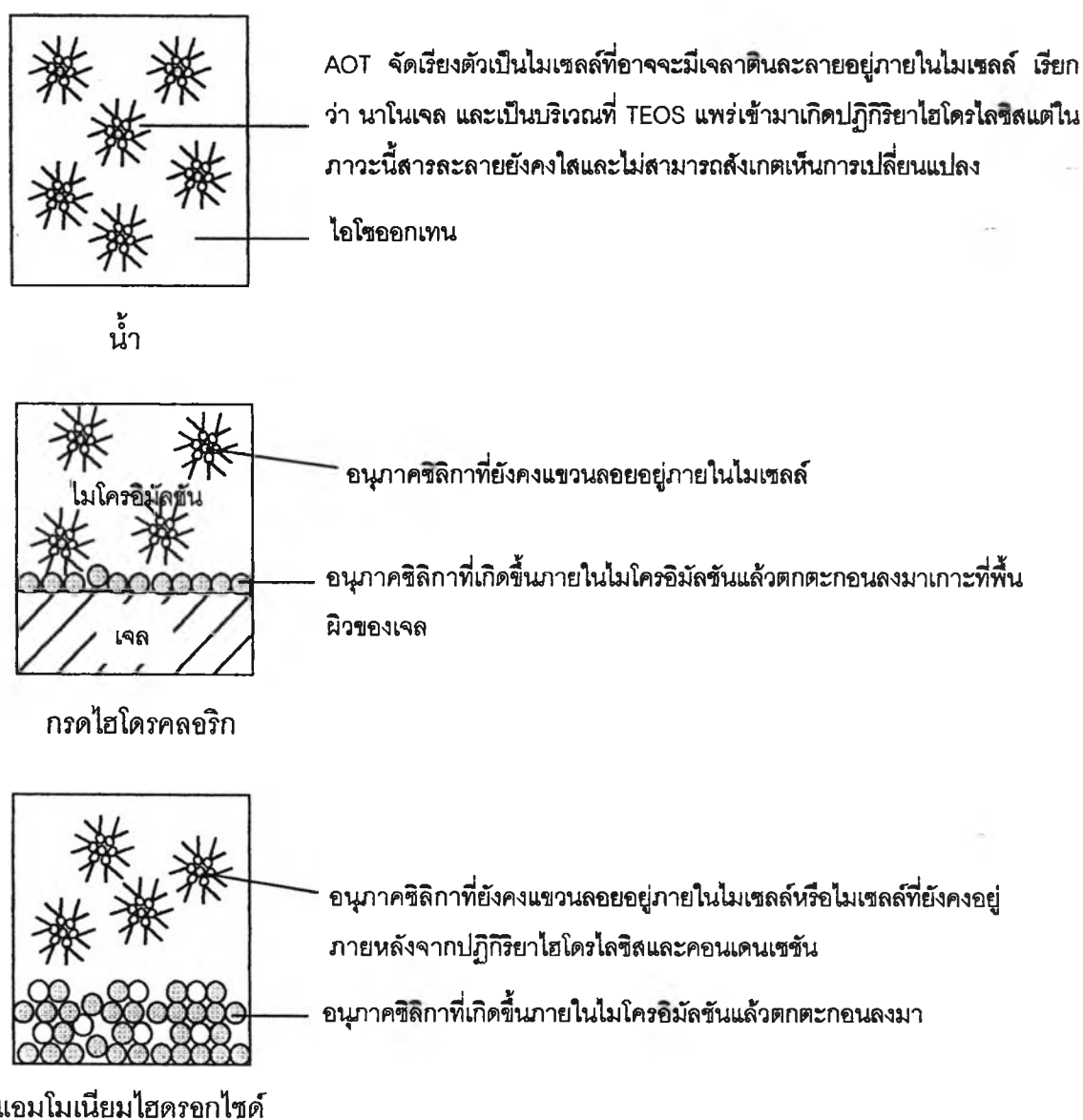
อย่าง ใช้เทคนิค MAS²⁹SiNMR เพื่อวิเคราะห์โครงสร้างของซิลิกาซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาซิล-เจล และใช้เทคนิค BET ในการวัดพื้นที่ผิวต่อกรัมของวัสดุพูนในการถ่ายเทมวลสารของวัสดุนี้

เพื่อความสะดวกในการทดลองในเบื้องต้นเพื่อหาภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์วัสดุซิลิกา-เจลนาโนคอมโพสิตจะใช้ภาวะในการทดลองเช่นเดียวกับ Watzke และ Dieschbourg (1994) (AOT 250 mM W₀ = 30 HCl 0.1 M น้ำ และเจลาติน 1.7 %โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) แล้วจึงทำการแปรค่าของตัวแปรซึ่งได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ใช้ในการสังเคราะห์อัตราส่วนเชิงโมลของน้ำต่อเตตระอีทอกซีซิลีนและปริมาณเจลาตินที่ใช้ในการสังเคราะห์ ตามลำดับ

5.1.1 อิทธิพลของค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH value)

ค่าความเป็นกรด-ด่างของวัฏภาคสารละลายน้ำซึ่งอยู่ภายในหยดไมโครอิมัลชันมีผลต่อโครงสร้างของวัสดุซิลิกา-เจลนาโนคอมโพสิตเนื่องจากเป็นที่เกิดของกระบวนการซิล-เจลของเตตระอีทอกซีซิลีน ค่าความเป็นกรด-ด่างจะมีผลต่อความสามารถในการละลายของซิลิกาที่เกิดขึ้นซึ่งจะมีผลต่อผลิตภัณฑ์ที่สังเคราะห์ได้ และปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสและคอนเดนเซชันจะถูกกระตุ้นให้เกิดขึ้นที่ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เฉพาะดังได้กล่าวไว้ในส่วนของทฤษฎี ในเบื้องต้นได้ทำการทดลองละลายเจลาตินลงในสารละลายไมโครอิมัลชันของ AOT/ไอโซออกเทน ที่ $r = 4$ พบว่าในระบบที่ใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์ น้ำบริสุทธิ์ และแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ 0.1 โมลาร์ เจลาตินสามารถละลายได้ถึง 10%โดยน้ำหนักต่อปริมาตร แต่ระบบที่ใช้สารละลายแอมโมเนีย 1 โมลาร์ เจลาตินสามารถละลายได้ต่ำกว่า 3%โดยน้ำหนักต่อปริมาตร แต่อย่างไรก็ตามเมื่อใช้สารละลายแอมโมเนีย 0.1 โมลาร์ พบว่าปฏิกิริยาเกิดช้ามาก เนื่องจากสารละลายยังคงใสและไม่สามารถสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงเมื่อปล่อยให้พักไว้ในภาชนะปิดเป็นเวลา 1 สัปดาห์ สอดคล้องกับ Pope และ Mackenzie (1986) ดังแสดงในตารางที่ 2.2 ซึ่งพบว่าเมื่อใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริกและสารละลายแอมโมเนียที่ความเข้มข้นที่เท่ากัน เวลาที่ใช้ในการเกิดเจลของการเร่งปฏิกิริยาด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก(กรดแก่)จะสั้นกว่าการใช้สารละลายแอมโมเนีย(เบสอ่อน)ในการเร่งปฏิกิริยา ในการทดลองชุดนี้จึงได้ทำการศึกษาตัวเร่งปฏิกิริยาที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการสังเคราะห์วัสดุซิลิกา-เจลนาโนคอมโพสิตในระบบของ AOT/ไอโซออกเทน เจลาติน 1.7%โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่อัตราส่วนเชิงโมลของสารละลายน้ำต่อ TEOS (r) เป็น 4 โดยทำการแปรเปลี่ยนค่าความเป็นกรด-ด่างที่ใช้ในการสังเคราะห์โดยใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์ (pH=1) แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ 1.0 โมลาร์ (pH=11) และน้ำบริสุทธิ์ (pH=6) ดังแสดงไว้ในหัวข้อ 4.3.1 ขณะทำการ

ทดลองละลายเจลาตินลงในสารละลายไมโครอิมัลชันที่อุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส พบว่าเจลาตินจะละลายได้ดีในสารละลายกรดและในน้ำบริสุทธิ์ หลังจากปล่อยให้เย็นตัวลงสารละลายมีลักษณะใสและไม่จับตัวเป็นออร์แกโนเจลเนื่องจากมีปริมาณเจลาตินที่น้อยเกินไป เมื่อปล่อยให้ปฏิกิริยาดำเนินไปเป็นเวลา 1 วันภายในภาชนะปิดพบว่าลักษณะของระบบทั้ง 3 ภาวะของการเร่งปฏิกิริยาอาจแสดงได้ดังรูปที่ 5.1

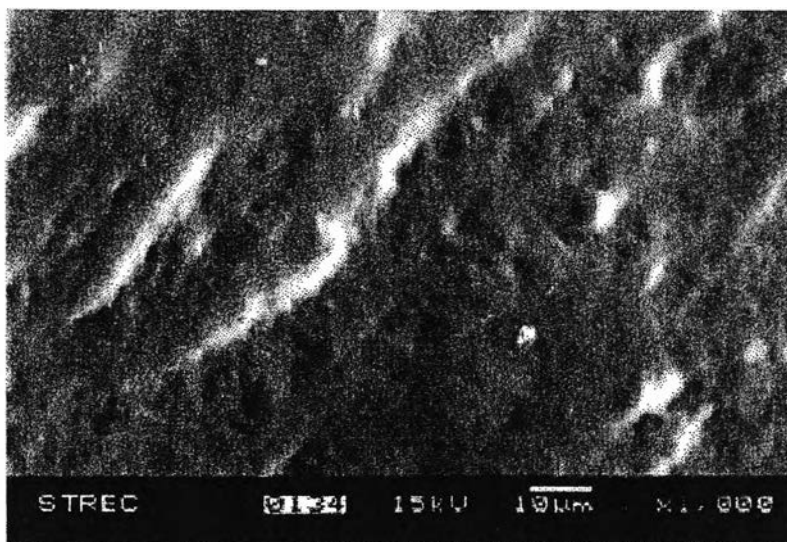


รูปที่ 5.1 ระบบของการสังเคราะห์ซิลิกา-เจลาตินนาโนคอมโพสิตหลังจากการเกิดปฏิกิริยาของสารละลายน้ำ (น้ำบริสุทธิ์ กรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์และแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ 1 โมลาร์) กับ TEOS 1 วันภายในภาชนะปิด ในระบบ AOT/ไอโซออกเทน เจลาติน 1.7% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ค่า $r = 4$

จากลักษณะของระบบที่เกิดขึ้นผลิตภัณฑ์พื้นฐานที่เกิดขึ้นจากกระบวนการโซล-เจล น่าจะคล้ายคลึงกับระบบการเกิดกระบวนการโซล-เจลของ TEOS ในสารละลายน้ำที่ไม่ใช้อัลกอฮอล์เป็นตัวทำละลายร่วมเนื่องจากซิลิกา-เจลาคตินนาโนคอมโพสิตประกอบขึ้นจากไมโครอิมัลชันซึ่งเกิดจากการละลายของวัฏภาคน้ำขนาดจิ๋วในตัวทำละลายอินทรีย์ เจลาตินซึ่งเป็นโพลิเมอร์ชีวภาพสามารถถูกละลายอยู่ในหยดน้ำขนาดจิ๋วนี้ได้ เจลาตินที่ถูกละลายหากมีปริมาณที่มากพอจะชักนำให้เกิดเจลของหยดน้ำขนาดจิ๋วเหล่านี้เป็นออร์แกโนเจล ไมโครอิมัลชันและออร์แกโนเจลมีพื้นที่ผิวต่อปริมาตรที่สูงมากซึ่งจะเป็นบริเวณที่เกิดปฏิกิริยาเคมีทั้งบริเวณภายในหยดน้ำขนาดจิ๋วและที่พื้นผิวระหว่างวัฏภาค จากรูปที่ 5.1 เมื่อไม่มีตัวเร่งปฏิกิริยา (น้ำบริสุทธิ์) สารละลายยังคงเป็นของเหลวใสและไม่สามารถสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลง แสดงว่ากระบวนการโซล-เจลของ TEOS เกิดขึ้นช้ามากเมื่อไม่มีตัวเร่งปฏิกิริยา ระบบยังคงเป็นสารละลายไมโครอิมัลชันที่มีเจลาตินละลายอยู่ ซึ่งพบว่ามีผลขัดแย้งกับผลงานวิจัยของ Watzke และ Dieschbourg (1994) ที่สามารถสังเคราะห์ซิลิกา-เจลาคตินนาโนคอมโพสิตได้แต่ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากชนิดของสารตั้งต้นที่แตกต่างกันคือ Watzke และ Dieschbourg (1994) ใช้ TMOS ซึ่งมีขนาดโมเลกุลเล็กกว่าน่าจะทำปฏิกิริยาได้ดีกว่า TEOS จากนั้นนำของเหลวไประเหยแห้งในบรรยากาศ (air dry) ของแข็งที่เหลือเป็นเจลสีขุ่น เมื่อใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์ เนื่องจากปริมาณเจลาตินน้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณตัวทำละลายทำให้ไม่สามารถอ้อมตัวทำละลายซึ่งมีปริมาณมากไว้ได้หมดจึงเกิดการแยกวัฏภาค ซึ่งการแยกวัฏภาคน่าจะเกิดขึ้นในลักษณะเช่นเดียวกับงานวิจัยของ Watzke และ Dieschbourg (1994) ที่ศึกษากระบวนการโซล-เจลในระบบไมโครอิมัลชัน (ไม่มีเจลาติน) ดังกล่าวไว้ในส่วนตรวจเอกสารหัวข้อที่ 3.2.3 โดยเกิดการแยกเป็น 2 วัฏภาค ได้แก่วัฏภาคไมโครอิมัลชันที่คงเหลืออยู่และวัฏภาคของกรดเอทานอลิก-ซิลิกซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (รูปที่ 5.1) ในวัฏภาคหลังนี้จะเกิดเป็นเจลขึ้นหลังจาก 1 วัน เมื่อนำไประเหยแห้ง เจลมีลักษณะเป็นของแข็งสีขาวขุ่นเนื่องจากมีส่วนที่เป็นแก้วโปร่งแสงปนกับผงอนุภาคสีขาวขุ่นที่บริเวณพื้นผิว เมื่อใช้สารละลายแอมโมเนีย 1 โมลาร์ ปฏิกิริยาคอนเดนเซชันเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วสามารถสังเกตเห็นได้จากสารละลายมีสีขาวขุ่นของอนุภาคซิลิกาขนาดใหญ่ที่เกิดขึ้นหลังจากให้เกิดปฏิกิริยากับ TEOS 1 ชั่วโมง หลังจากวางทิ้งไว้ 1 วันพบว่าอนุภาคสีขาวตกตะกอนอยู่ในของเหลว นำไประเหยของเหลวออก ก็อนุภาคที่แห้งไม่จับตัวกันเป็นเจลที่ภาวะนี้

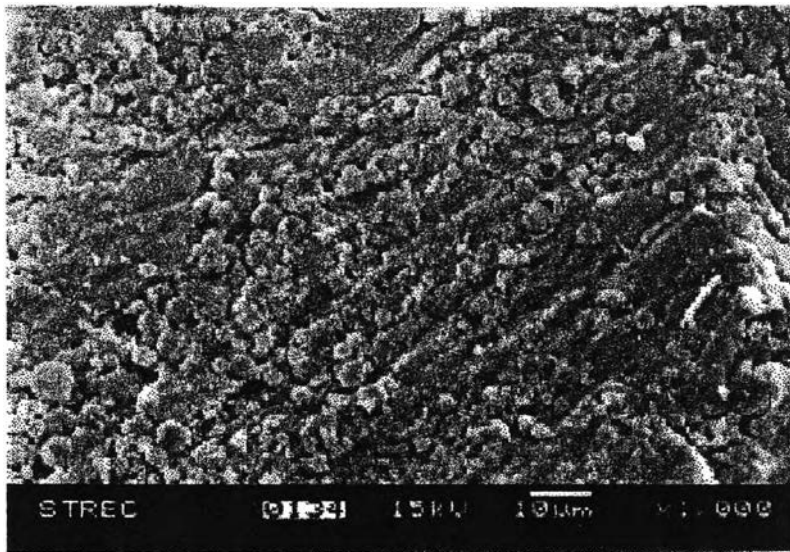
การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค SEM เมื่อไม่มีตัวเร่งปฏิกิริยา (รูปที่ 5.2 ก) ไม่สามารถสังเกตเห็นความพรุนที่พื้นผิวของตัวอย่างแม้ว่าจะใช้กำลังขยายที่สูงขึ้น (รูปที่ ข1 ภาคผนวก ข) ซึ่งมีลักษณะคล้ายคลึงกับเจลของระบบที่ไม่มี TEOS (รูปที่ ข4 ภาคผนวก ข) เมื่อใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์ ภาพถ่ายจาก SEM (รูปที่ 5.2 ข) ในส่วนของเจลจะไม่สามารถสังเกตเห็นความพรุนได้ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า และในส่วนทฤษฎีรูปที่ 2.1 A ในระบบสารละลายน้ำที่มากเกินไป ที่

ค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่า 7 แสดงถึงการเกิดเจลที่เกิดขึ้นจากการเกิดสายโซ่ของอนุภาคนาโนระดับนาโนเมตร (Iler, 1979) ดังนั้นเจลน่าจะเกิดขึ้นจากการเกาะตัวของกลุ่มอนุภาคนาโนขนาดเล็กมากในระดับนาโนเมตร นอกจากนี้ที่บริเวณพื้นผิวของเจลยังสังเกตเห็นอนุภาคนาโนเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3 ไมโครเมตร ซึ่งเป็นขนาดใหญ่กว่าขนาดของรีเวอร์สไมเซลล์ (2-20 nm; Quillet และคณะ, 1991) แสดงว่าอนุภาคที่เกิดขึ้นน่าจะเกิดจากการแลกเปลี่ยนมวลสารกันระหว่างไมเซลล์ (intermicellar process; Arriagada และ Osseo-Asare, 1995) เป็นอนุภาคที่ใหญ่ขึ้นในวัฏภาคไมโคร-อิมัลชันตกตะกอนลงมาเกาะที่พื้นผิวของเจล เมื่อใช้กำลังขยายสูงขึ้น (รูปที่ ๒2 ภาคผนวก ข) จะเห็นว่าส่วนของเจลมีโครงสร้างที่มีความพูนสูงซึ่งประกอบด้วยอนุภาคนาโนประมาณ 0.1 ไมโครเมตร และรูพูนที่ละเอียดถึงระดับนาโนเมตร เมื่อใช้สารละลายแอมโมเนีย 1 โมลาร์ (รูปที่ 5.2 ค) พบก้อนที่มีรูปร่างอสังฐานมีขนาดใหญ่ประมาณ 50 ไมโครเมตรเกิดจากอนุภาคนาโนเล็กประมาณ 0.3 ไมโครเมตร ตกตะกอนมารวมกัน รูพูนที่เกิดขึ้นระหว่างอนุภาคที่มาเกาะกันมีขนาดระดับไมโครเมตรใหญ่กว่าในภาวะที่เป็นกรด การเกาะตัวกันของอนุภาคที่เกิดขึ้นขัดแย้งกับส่วนทฤษฎี(รูปที่ 2.1) ในระบบของสารละลายน้ำ พบว่าเมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างสูงกว่า 10 และไม่มีการเติมเกลือในระบบอนุภาคซิลิกาที่เกิดขึ้นจะมีขนาดใหญ่และไม่สามารถเกาะกันเป็นเจล (particulate gel) ได้เนื่องจากแต่ละอนุภาคจะเกิดแรงผลักซึ่งกันและกัน (Stober และคณะ, 1968) ดังนั้นการเกาะตัวของอนุภาคน่าจะเป็นผลมาจากการมีเจลาตินอยู่ในระบบเนื่องจากเจลาตินจะละลายอยู่ในรูปของนาโนเจลซึ่งเป็นบริเวณที่อุดมไปด้วยน้ำ TEOS จะแพร่เข้ามาเกิดปฏิกิริยากับน้ำจึงเป็นไปได้ว่าอนุภาคซิลิกาที่เกิดขึ้นเป็นวัสดุเชิงประกอบกับนาโนเจลซึ่งมีลักษณะเป็นเกลียวจะทำให้เกิดแรงยึดระหว่างอนุภาคมากขึ้นกว่าในระบบที่ไม่มีเจลาติน

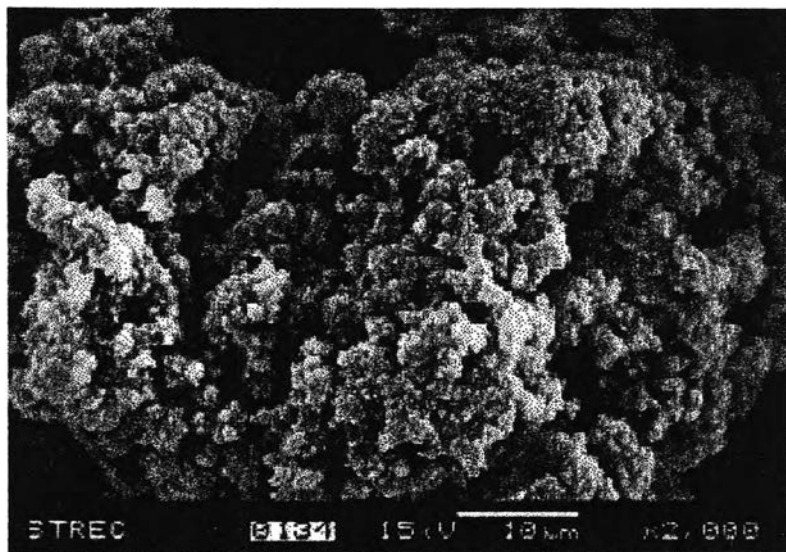


ก

รูปที่ 5.2



ข



ค

รูปที่ 5.2 พื้นผิวจากเทคนิค SEM ของวัสดุซิลิกา-เจลาตินนาโนคอมโพสิต ระบบ AOT/ไอโซออกเทน, เจลาติน 1.7% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่อัตราส่วนเชิงโมลของสารละลายน้ำต่อ TEOS (r) เป็น 4 (ก) น้ำบริสุทธิ์ (ข) กรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์ (ค) สารละลายแอมโมเนีย 1.0 โมลาร์

การวิเคราะห์พื้นที่ผิวด้วยเทคนิค BET (แสดงในตารางที่ 5.1) เมื่อไม่มีตัวเร่งปฏิกิริยา พบว่ามีขนาด 0.35 ตารางเมตรต่อกรัม ซึ่งมีค่าต่ำสุดคล้ายกันกับภาพถ่ายด้วยเทคนิค SEM จากข้อมูลที่กล่าวไว้ข้างต้นที่สังเกตจากภาพถ่ายด้วยเทคนิค SEM พบว่าในภาวะที่เป็นเบส ภูเขาที่เกิดขึ้นมีขนาดระดับไมโครเมตรใหญ่กว่าภาวะที่เป็นกรดที่มีขนาดระดับนาโนเมตร ดังนั้นพื้นที่ผิวของตัวอย่างที่สังเคราะห์ในภาวะที่เป็นเบสจึงน่าจะต่ำกว่าในภาวะที่เป็นกรด ซึ่งเมื่อนำตัวอย่างไปวิเคราะห์พื้นที่ผิวด้วยเทคนิค BET พบว่าในภาวะเบสมีค่า 0.71 ตารางเมตรต่อกรัม และในภาวะกรดมีพื้นที่ผิว 1.83 ตารางเมตรต่อกรัม ดังแสดงในตารางที่ 5.1

ตารางที่ 5.1 ลักษณะของตัวอย่างที่สังเกตเห็นจากตาเปล่า ผลการวิเคราะห์พื้นที่ผิวของตัวอย่างด้วยเทคนิค BET และโครงสร้างของซิลิกาด้วยเทคนิค MAS ²⁹SiNMR

ชนิดของตัวเร่งปฏิกิริยา	ลักษณะที่สังเกตเห็นจากตาเปล่า	พื้นที่ผิว (m ² /g)	Q ² :Q ³ :Q ⁴
H ₂ O	เจลค่อนข้างใส เป็นแผ่นบาง	0.35	1: 3: 1
HCl 0.1 M	เจลแข็ง แต่เปราะ แตกเป็นผงได้ง่าย มีสีขาวขุ่น	1.83	1: 4: 1
NH ₄ OH 1.0 M	ผงอนุภาคสีขาว	0.71	1: 7: 2

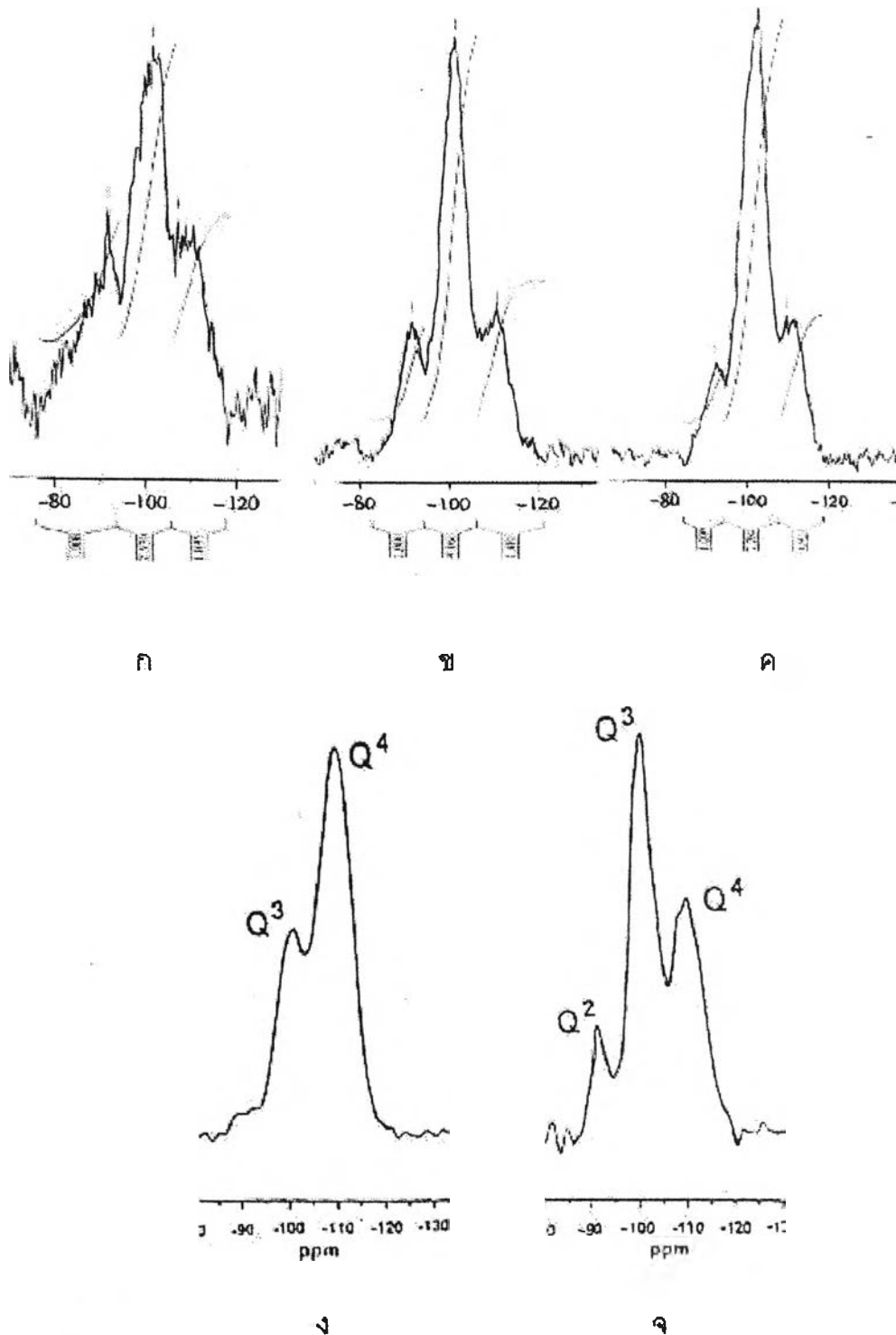
การวิเคราะห์โครงสร้างของซิลิกาด้วยเทคนิค MAS ²⁹Si NMR งานวิจัยนี้ใช้เทคนิค MAS ²⁹Si NMR เช่นเดียวกับ Watzke และ Dieschbourg (1994) ในการศึกษาการแผ่ขยายของอะตอมซิลิกอนภายในโครงข่ายของซิลิกาที่เกิดขึ้น ซึ่งจะใช้สัญลักษณ์ Qⁿ แทนการแผ่ขยายของพันธะซิลิโตน (-Si-O-Si-) โดยที่ n = 4, Q⁴ = Si(OSi-)₄, n = 3, Q³ = Si(OSi-)₃(OH) และ n = 2, Q² = Si(OSi-)₂(OH)₂ จากตารางที่ 5.1 ที่ภาวะการทำปฏิกิริยาทั้ง 3 พบว่า สเปกตรัม NMR ดังแสดงในรูปที่ 5.3 ก ข และ ค มีลักษณะที่คล้ายคลึงกันและคล้ายคลึงกับซิลิกาเจลที่สังเคราะห์จากเตตระมีทอกซิลิเลน (TMOS) (ในระบบเดียวกันแต่ไม่มีเจลติน) (รูปที่ 5.3 จ) คือประกอบด้วย 3 พีค ได้แก่ Q², Q³ และ Q⁴ ปรากฏที่ตำแหน่งประมาณ -90, -100 และ -110 ส่วนในล้านส่วน(ppm) ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่ากลไกการเกิดเจลมีลักษณะที่คล้ายคลึงกันและการเกิดอนุภาคเบื้องต้นเกิดขึ้นที่หยดน้ำขนาดจิ๋วภายในไมโครอิมัลชัน ปฏิกิริยาcondensation ไม่ได้เกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์แต่มีอัตราส่วนของพื้นที่ใต้พีค Q²:Q³:Q⁴ แตกต่างกันในแต่ละภาวะของการเร่งปฏิกิริยา

-ภาวะที่ไม่มีตัวเร่งปฏิกิริยา (น้ำบริสุทธิ์) ค่าอัตราส่วนของพื้นที่ใต้กราฟต่ำกว่าในระบบที่มีการเร่งปฏิกิริยาด้วยกรดและเบสแสดงว่าการแผ่ขยายพันธะเชื่อมขวางของอะตอมซิลิ-

ก่อนที่เกิดจากปฏิกิริยาไฮล-เจลมีค่าต่ำกว่าที่ภาวะทั้ง 2 และจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค SEM และ BET พบว่าความพรุนและพื้นที่ผิวมีค่าต่ำมาก น่าจะเป็นเพราะอัตราการเกิดปฏิกิริยาไฮล-เจลที่ต่ำทำให้โครงข่ายของเจลาตินเด่นกว่าซิลิกา-เจลาตินนาโนคอมโพสิต นอกจากนี้สเปกตรัม NMR ในรูปที่ 5.3 ก ยังแตกต่างจากงานวิจัยของ Watzke และ Dieschbourg (1994) ในรูปที่ 5.3 ง ซึ่งประกอบด้วย 2 พีค คือ Q^3 และ Q^4 เท่านั้น

-ภาวะที่เป็นกรด มีสัดส่วนของ Q^3 เพิ่มขึ้นแสดงว่าการแผ่ขยายพันธะเชื่อมขวางของอะตอมซิลิกอนที่เกิดจากปฏิกิริยาไฮล-เจลมีค่าสูงกว่าในภาวะที่ไม่มีตัวเร่งปฏิกิริยา ในภาวะนี้ Watzke และ Dieschbourg (1994) พบว่า เมื่อไม่มีเจลาตินและใช้ TMOS เป็นสารตั้งต้น ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ปฏิกิริยาคอนเดนเซชันเกิดขึ้นระหว่างโมเลกุลของกรดซิลิกที่เกิดจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสอย่างสมบูรณ์ และเนื่องจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ทำให้เมทานอลเกิดขึ้นมากจะทำให้เกิดการแยกวัฏภาคเป็นวัฏภาคกรดเมทานอลิก-ซิลิกออกจากวัฏภาคไมโครอิมัลชัน ซึ่งในทำนองเดียวกันงานวิจัยนี้ใช้ TEOS เป็นสารตั้งต้น เมื่อใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์ เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ไฮโดรไลซิสเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วทำให้เมทานอลที่เกิดขึ้นมีปริมาณมาก จึงเกิดการแยกของวัฏภาคในลักษณะเดียวกัน เกิดเป็นวัฏภาคของไมโครอิมัลชันและวัฏภาคของกรดเมทานอลิก-ซิลิก (รูปที่ 5.1) ซึ่งที่วัฏภาคหลังนี้จะเกิดเป็นเจลหลังจาก 1 วัน แต่เจลที่เกิดขึ้นพบว่า มีลักษณะขุ่นไม่ใสเหมือนในระบบที่ไม่มีเจลาติน

-ภาวะที่เป็นเบส สัดส่วนของ Q^3 และ Q^4 สูงกว่าทั้งในภาวะที่เป็นกรดและกลางแสดงว่าการแผ่ขยายพันธะเชื่อมขวางของอะตอมซิลิกอนที่เกิดจากปฏิกิริยาไฮล-เจลมีค่าสูงกว่าในภาวะที่ไม่มีตัวเร่งปฏิกิริยาและภาวะกรด การเร่งปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นนี้เป็นเพราะว่าความเข้มข้นของสารละลายแอมโมเนีย 1 โมลาร์ ที่ใช้มีค่ามากกว่าความเข้มข้นของสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์ และลักษณะของก้อนอนุภาคซิลิกาที่เกิดขึ้นเป็นเพราะว่าในระบบที่ค่าความเป็นกรด-ด่างสูงความสามารถในการละลายตัวของอนุภาคซิลิกาจะสูงกว่าในระบบที่ค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำ ดังนั้นการเติมโมโนเมอร์เข้าสู่วงโพลีเมอร์เดิมของอนุภาคซิลิกาที่แตกตัวออกจะเกิดได้มากขึ้นด้วย กลไกในลักษณะเช่นนี้เป็นการเติมอนุภาคขนาดเล็กซึ่งมีความสามารถในการละลายสูงเข้าสู่อนุภาคที่มีขนาดใหญ่กว่าซึ่งมีความสามารถในการละลายที่ต่ำกว่า จากกลไกดังกล่าวอนุภาคที่เกิดขึ้นในภาวะเบสจึงมีขนาดใหญ่กว่าในภาวะกรด และอนุภาคซิลิกาขนาดเล็กมาเกาะอยู่รวมกันเป็นโครงสร้างที่แน่นส่งผลให้พื้นที่ผิวที่วัดได้มีค่าต่ำกว่าในภาวะกรด



รูปที่ 5.3 สเปกตรัม MAS ^{29}Si NMR ของวัสดุซิลิกา-เจลลาดินนาโนคอมโพสิต ระบบ AOT/ไอโซออกเทน , เจลาดิน 1.7%โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่อัตราส่วนเชิงโมลของสารละลายน้ำต่อTEOS (r) เป็น 4 (ก) น้ำบริสุทธิ์ (ข) กรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์ (ค) สารละลายแอมโมเนีย 1.0 โมลาร์ เปรียบเทียบกับ สเปกตรัมของซิลิกา-เจลลาดินนาโนคอมโพสิตและสเปกตรัมของซิลิกาเจลที่สังเคราะห์จากTMOS (Watzke และ Dieschbourg, 1994) ในรูป (ง) น้ำบริสุทธิ์ และ (จ) กรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์ ตามลำดับ

การเปรียบเทียบซิลิกา-เจลนาโนคอมโพสิตที่สังเคราะห์จาก TEOS (งานวิจัยนี้) และจาก TMOS (Watzke และDieschbourg, 1994)

Watzke และDieschbourg (1994) ได้สังเคราะห์ซิลิกา-เจลนาโนคอมโพสิตจากกระบวนการโซล-เจลของ TMOS ใน MBGs ที่มีส่วนประกอบดังนี้ AOT 250 มิลลิโมลาร์ในไฮโซออกเทน $W_0 = 30$ เจลาติน 1.7 %โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และ $r = 4$ ซึ่งระบบนี้จะไม่ทำให้เกิดการแยกวัฏภาคขณะที่มีการเกิดเจล ซึ่งได้อธิบายรายละเอียดในส่วนทฤษฎีหัวข้อที่ 3.2.4 ภาพถ่ายของตัวอย่างด้วยเทคนิค SEM ทั้งในภาวะที่เป็นกรด (HCl 0.1 M) และภาวะที่เป็นกลาง (น้ำบริสุทธิ์) เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยนี้ซึ่งได้สังเคราะห์ซิลิกา-เจลนาโนคอมโพสิตจาก TEOS ด้วยระบบที่มีส่วนประกอบอื่นๆ ที่เหมือนกัน แสดงในรูปที่ 5.4 โครงสร้างพื้นผิวภายนอกแตกต่างกันมาก เป็นเพราะความแตกต่างกันในการใช้สารตั้งต้นในกระบวนการโซล-เจลซึ่ง TMOS จะไวต่อปฏิกิริยามากกว่า TEOS เนื่องจากหมู่เอทิล (ethyl group, C_2H_5-) ของ TEOS เป็นอัลคิล (alkyl group, $C_nH_{2n+1}-$) ที่มีสายคาร์บอนยาวกว่าหมู่เมทิล (methyl group, CH_3-) ของTMOS จะมีผลต่อกำหนดวงปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสและปฏิกิริยาคอนเดนเซชันที่ตามมามากกว่า TMOS (Schmidt และคณะ, 1986) นอกจากนี้ยังมีความแตกต่างจากระบบที่สังเคราะห์

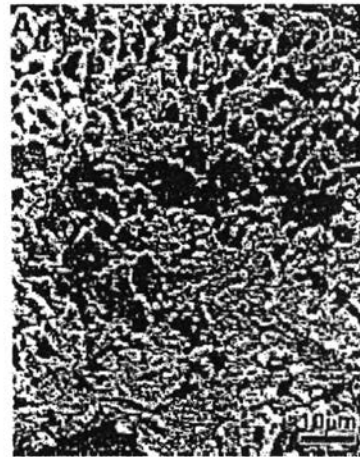
-ภาวะที่เป็นกรด ในระบบที่สังเคราะห์ด้วย TMOS จากงานของ Watzke และDieschbourg ไม่พบการแยกวัฏภาคขณะที่เกิดเจลแต่ระบบที่สังเคราะห์ด้วย TEOS ในงานวิจัยนี้เกิดการแยกวัฏภาคของกรดเจทานอลิก-ซิลิก(ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส)ออกจากวัฏภาคไมโครอิมัลชัน อย่างไรก็ตามจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค $MAS^{29}SiNMR$ พบว่าโครงสร้างของซิลิกาที่เกิดขึ้นในงานวิจัยนี้ (รูปที่ 5.3 ข) คล้ายคลึงกับซิลิกาเจลที่สังเคราะห์จากTMOS ในระบบที่ไม่มีเจลาติน (รูปที่ 5.3 จ) ซึ่งทั้ง 2 เกิดการแยกวัฏภาคของอัลกอซอลิก-ซิลิกออกจากวัฏภาคไมโครอิมัลชันในลักษณะเดียวกัน

-ภาวะที่เป็นกลาง ระบบที่สังเคราะห์ด้วย TMOS (รูปที่ 5.4 ข) นอกจากปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเร็วกว่าการสังเคราะห์ด้วย TEOS (รูปที่ 5.4 ก) ซึ่งในงานวิจัยนี้การสังเคราะห์ด้วย TEOS ถูกปล่อยให้ปฏิกิริยาดำเนินไปเป็นเวลา 1 วัน ที่ภาวะนี้ปฏิกิริยาเกิดขึ้นช้ามากซึ่งสามารถสังเกตได้จากการทดลองและสอดคล้องกับส่วนทฤษฎีหัวข้อที่ 2.2.1.1 ที่นักวิจัยหลาย ๆ ท่าน (Pope และ Mackenzie, 1986, และPohl และOsterholtz, 1985) ได้เสนอว่า ถ้าความแรงและความเข้มข้นของตัวเร่งปฏิกิริยายิ่งมากจะทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสเกิดได้เร็วยิ่งขึ้น แต่ในภาวะที่ไม่มีตัวเร่งปฏิกิริยา ๆ จึงเกิดช้าดังนั้นภายในเวลา 1 วันงานวิจัยนี้คาดว่าปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสและคอนเดนเซชันที่

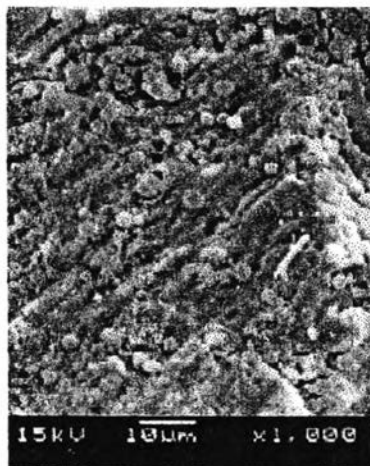
ตามมาเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อย เมื่อนำตัวอย่างไปวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิค MAS²⁹SiNMR พบว่าสเปกตรัมประกอบด้วย 3 พีค ได้แก่ Q₂, Q₃ และ Q₄ (รูปที่ 5.3 ก) แตกต่างอย่างมากจากระบบที่สังเคราะห์ด้วย TMOS ซึ่งประกอบด้วย 2 พีค ได้แก่ Q₃ และ Q₄ เท่านั้น (รูปที่ 5.3 ง)



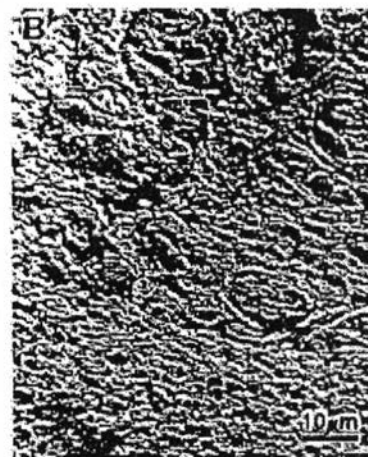
ก



ข



ค



ง

รูปที่ 5.4 ซิลิกา-เจลนาโนคอมโพสิตสังเคราะห์จาก (ก) TEOS, ภาวะที่เป็นกลาง มาจากรูปที่ 5.2ก (ข) TMOS, ภาวะที่เป็นกลาง มาจากรูปที่ 3.9 ก (Watzke และ Dieschbourg, 1994) (ค) TEOS, HCl 0.1 M มาจากรูปที่ 5.2ข (ง) TMOS, ภาวะที่เป็นกลาง มาจากรูปที่ 3.9ข (Watzke และ Dieschbourg, 1994)

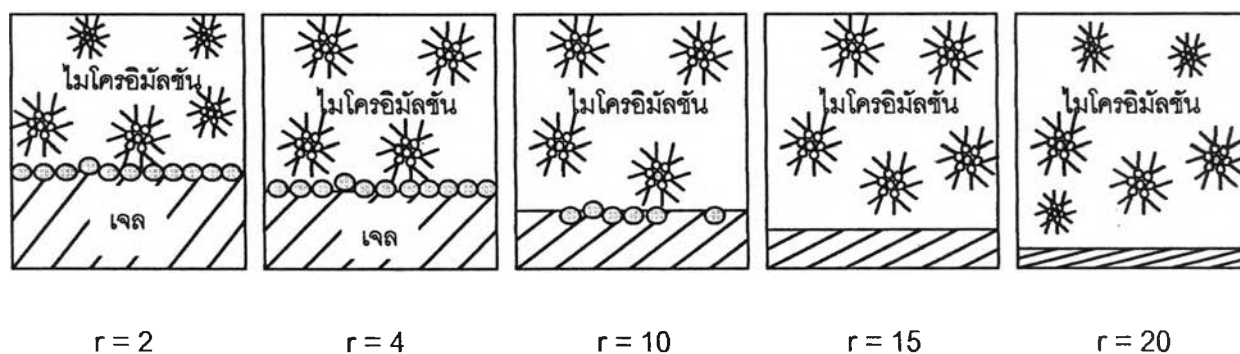
สำหรับงานวิจัยนี้ เมื่อพิจารณาผลการทดลองแล้ว ในระบบที่ไม่มีตัวเร่งปฏิกิริยา กระบวนการโซล-เจลจะเกิดช้ามากและระบบที่ใช้สารละลายแอมโมเนีย 1 โมลาร์ เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา แม้ว่าปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วแต่วัสดุที่ได้มีลักษณะเป็นผงละเอียดซึ่งไม่เหมาะต่อการนำไปใช้ในการตรึงเอนไซม์ จึงเลือกใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์ เพื่อเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาใน กระบวนการโซล-เจลเนื่องจากทำให้ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสและคอนเดนเซชันเกิดเร็วขึ้นและได้โครงข่าย เจลที่มีความพรุนสูง

5.1.2 อิทธิพลของอัตราส่วนเชิงโมลของน้ำต่อเตตระอิทอกซีซิลเลน (r)

ค่า r มีผลต่อลักษณะของผลิตภัณฑ์สำเร็จที่ได้เนื่องจากเป็นอัตราส่วนระหว่างสารตั้ง ต้นที่เข้าทำปฏิกิริยาในกระบวนการโซล-เจล ค่า r จะมีผลต่อการแตกตัวของวงโพลีเมอร์ของซิลิกาที่ เกิดขึ้นเนื่องจากในระบบที่ค่า r สูงจะทำให้ปริมาณน้ำในระบบสูง ซึ่งน้ำเป็นผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยา คอนเดนเซชันที่ผลิตน้ำ (สมการที่ 2.3) จึงสามารถทำให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของพันธะซิลิเซนซึ่งเป็นปฏิกิริยาย้อนกลับของสมการที่ 2.3 ได้ และจะทำให้สามารถสร้างโพลีเมอร์ต่อไปได้ ดังนั้นอนุภาค ซิลิกาจะมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อค่า r สูงขึ้น ในการทดลองชุดนี้ใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์ และกำหนดให้ปริมาณสารละลายกรดไฮโดรคลอริกคงที่ ใช้ระบบ AOT/ไอโซออกเทน ,เจลาติน 1.7% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ในการศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงค่า r ในช่วง 2 ถึง 20 ดังแสดงไว้ในหัวข้อ 4.3.2 ดังนั้นเมื่อค่า r เพิ่มขึ้นความเข้มข้นของ TEOS จะลดลง เนื่องจากควบคุมให้ปริมาณสารละลาย น้ำคงที่ ($W_0 = 30$) ขณะทำการทดลองเจลาตินสามารถละลายได้ในไมโครอิมัลชันของ AOT/ สารละลายกรดไฮโดรคลอริก/ ไอโซออกเทน ที่อุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส หลังจากปล่อยให้เย็น ตัวลึงที่อุณหภูมิห้อง สารละลายมีลักษณะใสและไม่จับตัวเป็นออร์แกโนเจล เมื่อให้เกิดปฏิกิริยากับ TEOS และวางทิ้งไว้ 1 วันภายในภาชนะปิดพบว่า เกิดการแยกวัฏภาคทุกค่า r ที่ใช้ในการทดลองชุดนี้ ดังแสดงในรูปที่ 5.5 มีลักษณะเช่นเดียวกับในรูปที่ 5.1 โดยคาดว่าแยกออกเป็นวัฏภาคไมโครอิมัลชัน และวัฏภาคของกรดเอทานอลิก-ซิลิก ในวัฏภาคหลังนี้จะเกิดเป็นเจลขึ้นหลังจาก 1 วัน ผลของค่า r ต่อ ลักษณะของวัสดุซิลิกา-เจลาตินนาโนคอมโพสิตที่สังเคราะห์ได้ แสดงในตารางที่ 5.2 สามารถอธิบาย ได้ดังนี้ เมื่อค่า r เพิ่มขึ้นปริมาณของ TEOS ลดลงขณะที่ปริมาณเจลาตินคงที่ จึงทำให้วัสดุที่ สังเคราะห์ได้มีความแข็งแรงลดลง เนื่องจากโครงข่ายของซิลิกาที่เกิดเป็นวัสดุประกอบด้วยเจลาตินมีการ กระจายตัวอยู่เพียงเล็กน้อยหรือไม่สม่ำเสมอ ทำให้โครงข่ายของเจลาตินเด่นกว่าซิลิกา-เจลาตินนาโน คอมโพสิตเมื่อค่า r เพิ่มขึ้น

ตารางที่ 5.2 ลักษณะของตัวอย่างที่สังเกตเห็นจากตาเปล่า ผลการวิเคราะห์พื้นที่ผิวของตัวอย่างด้วยเทคนิค BET และโครงสร้างของซิลิกาด้วยเทคนิค MAS ²⁹SiNMR

ค่า r	TEOS (โมล)	ลักษณะที่สังเกตเห็นจากตาเปล่า	พื้นที่ผิว (m ² /g)	Q ² : Q ³ : Q ⁴
2	0.037	ผงอนุภาคสีขาวปนอยู่กับเจลแข็งสีขาวค่อนข้างทึบแสง เพราะแตกเป็นผงได้ง่าย	28.76	1: 4: 1
4	0.019	เจลแข็ง แต่เพราะแตกเป็นผงได้ง่าย มีสีขาวขุ่น พื้นผิวมีอนุภาคสีขาวเกาะอยู่	1.83	1: 4: 1
10	0.007	เจลแข็งมีสีขาวขุ่น โปร่งแสง พื้นผิวมีอนุภาคสีขาวเกาะอยู่ เล็กน้อย ดูดความชื้นได้เล็กน้อย เมื่อมีความชื้นจะเหนียวขึ้น ไม่หักง่าย	0.64	1: 5: 2
15	0.005	เจลแข็งมีสีขาวขุ่น โปร่งแสง เหนียวไม่หักง่าย ดูดความชื้น เมื่อมีความชื้นจะมีลักษณะที่ขุ่นขึ้น	-	1: 6: 3
20	0.004	เจลมีสีขาวขุ่นเนื่องจากดูดความชื้นได้มากขึ้น เมื่อมีความชื้นจะนิ่มลง	-	1: 5: 2



r = 2

r = 4

r = 10

r = 15

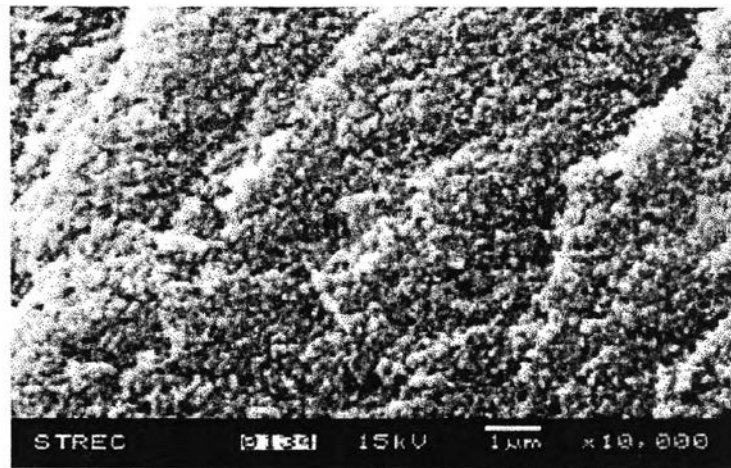
r = 20

รูปที่ 5.5 ระบบของการสังเคราะห์ซิลิกา-เจลาตินนาโนคอมโพสิตภายหลังจากการเกิดปฏิกิริยาของสารละลายน้ำ (ในภาวะของกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์) กับ TEOS 1 วันภายในภาชนะปิด ในระบบ AOT/ไฮโซออกเทน, เจลาติน 1.7% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ r ในช่วง 2-20

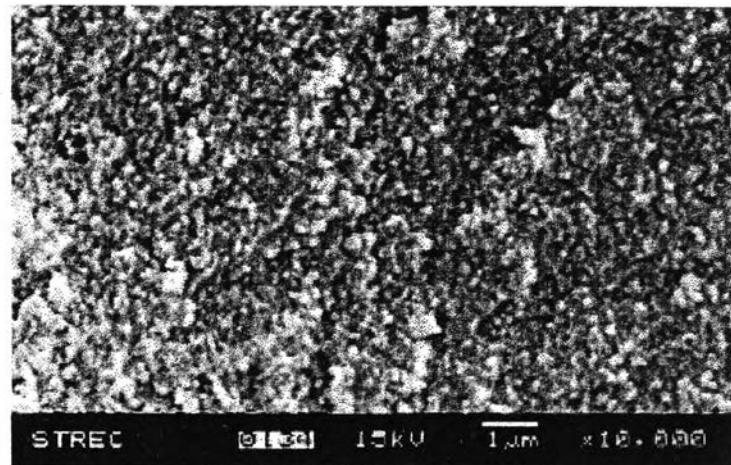
การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค SEM ภาพถ่ายจาก SEM ในรูปที่ 5.6 แสดงลักษณะโครงสร้างที่พื้นผิวของวัสดุตัวอย่าง จะเห็นได้ว่าตัวอย่างที่มีโครงสร้างของซิลิกา-เจลลาตินนาโนคอมโพสิตเด่น (ที่ค่า r ในช่วง 2 ถึง 4 รูปที่ 5.6 ก และ ข ตามลำดับ) ลักษณะพื้นผิวจะมีความพรุนสูง (ตารางที่ 5.2) ส่วนตัวอย่างที่มีโครงข่ายของเจลลาตินเด่นกว่า (ที่ค่า r ในช่วง 10 ถึง 20 รูปที่ 5.6 ค ง และ จ ตามลำดับ) จะมีลักษณะพื้นผิวคล้ายคลึงกับออร์แกโนเจลของระบบที่ไม่มี TEOS (รูปที่ ข4 ภาคผนวก ข) กล่าวคือในภาวะที่ตัวอย่างแห้งที่อุณหภูมิห้องจะไม่สามารถเห็นความพรุนได้ เจลจะมีโครงสร้างที่เป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneous internal structure) ซึ่งค่าพื้นที่ผิว (จากสมการ BET) ที่วัดได้จึงมีค่าน้อยมาก (ตารางที่ 5.2) นอกจากนี้ยังสังเกตเห็นได้ว่า มีรอยปริแตกที่พื้นผิวของวัสดุ (รูปที่ 5.6 ค ง จ) เนื่องจากวัสดุมีความแข็งลดลงทำให้ไม่สามารถทนแรงดันอากาศภายในเครื่อง SEM ที่กำลังขยายที่สูงขึ้นได้ จากลักษณะดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าซิลิกา-เจลลาตินนาโนคอมโพสิตมีความเสถียรเชิงกลมากกว่าออร์แกโนเจลซึ่งสอดคล้องกับ Watzke และ Dieschbourg (1994)

การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค MAS ^{29}Si NMR พบว่า สเปกตรัม NMR มีลักษณะที่คล้ายคลึงกันคือประกอบด้วย 3 พีค ได้แก่ Q^2 Q^3 และ Q^4 (รูปที่ 5.7) แสดงว่าปฏิกิริยาcondensation ไม่ได้เกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ ลักษณะของสเปกตรัมยังคงคล้ายคลึงกับซิลิกาเจลที่สังเคราะห์จากเตตระมีทอกซิลิเลน (TMOS) (ในระบบเดียวกันแต่ไม่มีเจลลาติน) (รูปที่ 5.3 จ) แสดงให้เห็นว่ากลไกการเกิดเจลมีลักษณะที่คล้ายคลึงกันและการเกิดอนุภาคเบื้องต้นเกิดขึ้นที่หยดน้ำขนาดจิ๋วภายในไมโครอิมัลชัน ที่ค่า $r = 2$ และ 4 มีอัตราส่วนของพื้นที่ใต้พีค $Q^2 : Q^3 : Q^4$ เท่ากันแสดงว่าเจลของซิลิกาที่เกิดขึ้นมีโครงสร้างที่เหมือนกัน ดังนั้นปริมาณ TEOS ของระบบที่ค่า $r = 2$ ซึ่งมีมากกว่าระบบที่ค่า $r = 4$ ไม่ได้มีผลทำให้เกิดความแตกต่างของโครงสร้างอย่างชัดเจนซึ่งสอดคล้องกับลักษณะที่สังเกตเห็นด้วยตาเปล่า แต่อย่างไรก็ตามจากการวัดพื้นที่ผิวของระบบที่ค่า $r = 2$ มีพื้นที่ผิวสูงถึง 28.76 ตารางเมตรต่อกรัม สูงกว่าพื้นที่ผิวของระบบ $r = 4$ มาก (มีพื้นที่ผิว 1.83 ตารางเมตรต่อกรัม) ซึ่งทั้ง 2 ระบบมีปริมาณเจลลาตินเท่ากัน หากพิจารณาในแง่ของการเกิดปฏิกิริยาไฮล-เจลของ TEOS เป็นอันดับแรก ที่ระบบ $r = 2$ ปริมาณ TEOS มากกว่าที่ระบบ $r = 4$ ถึง 2 เท่า ขณะที่ปริมาณน้ำเท่ากัน ดังนั้นในระบบ $r = 2$ น้ำทั้งหมดในระบบถูกใช้ในการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสและตามด้วยปฏิกิริยาcondensationเช่นกันส่วนที่ 2.1-2.3 ส่วนในระบบ $r = 4$ TEOS จะเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (ตามสมการที่ 2.1) กับน้ำที่มากเกินไป ดังนั้นงานวิจัยนี้คาดว่าปริมาณน้ำส่วนหนึ่งถูกใช้ในการละลายของเจลลาตินออกเป็นลักษณะเกลียว ทำให้นาโนเจลที่เกิดขึ้นระหว่างซิลิกา-เจลลาตินมีแรงดึงดูดที่ผิวมากจึงเกาะกันเป็นเจลที่ค่อนข้างแน่นกว่าทำให้พื้นที่ผิวที่วัดได้มีค่าต่ำกว่าที่ระบบ $r = 2$

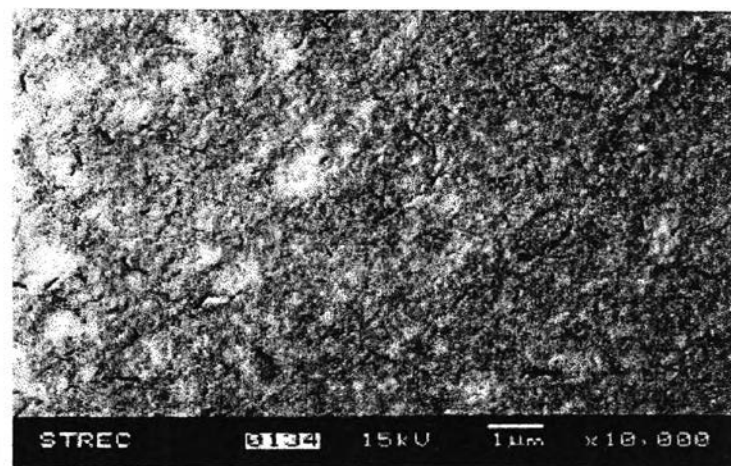
ก



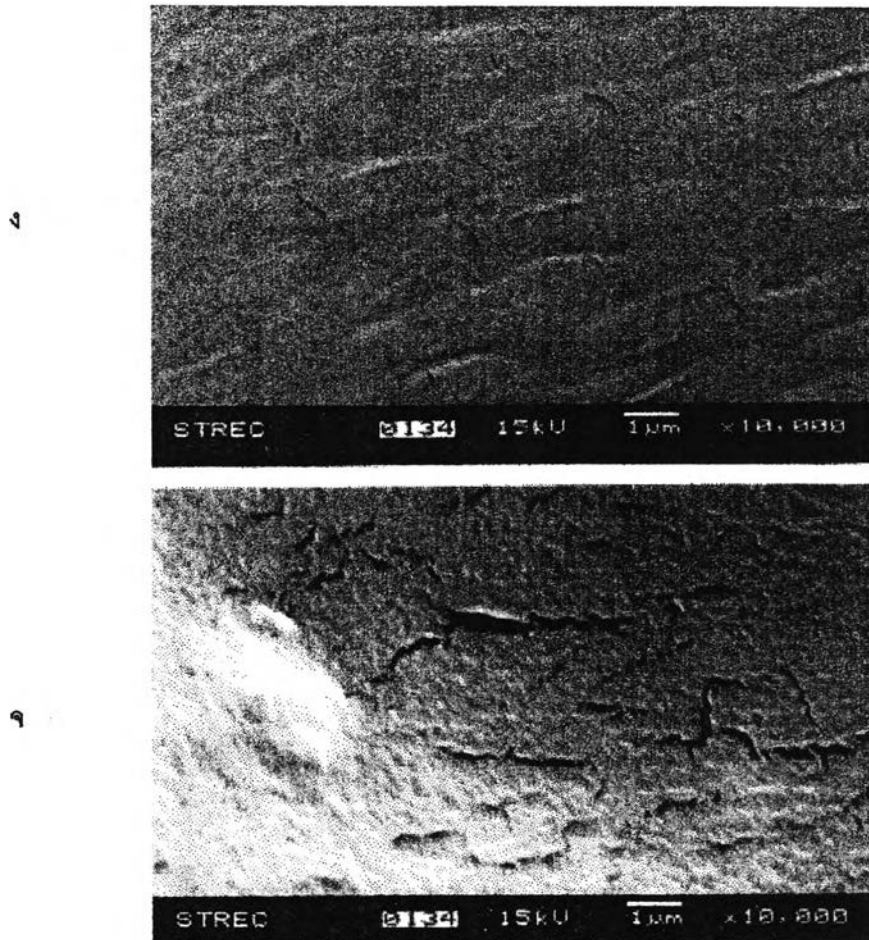
ข



ค



รูปที่ 5.6

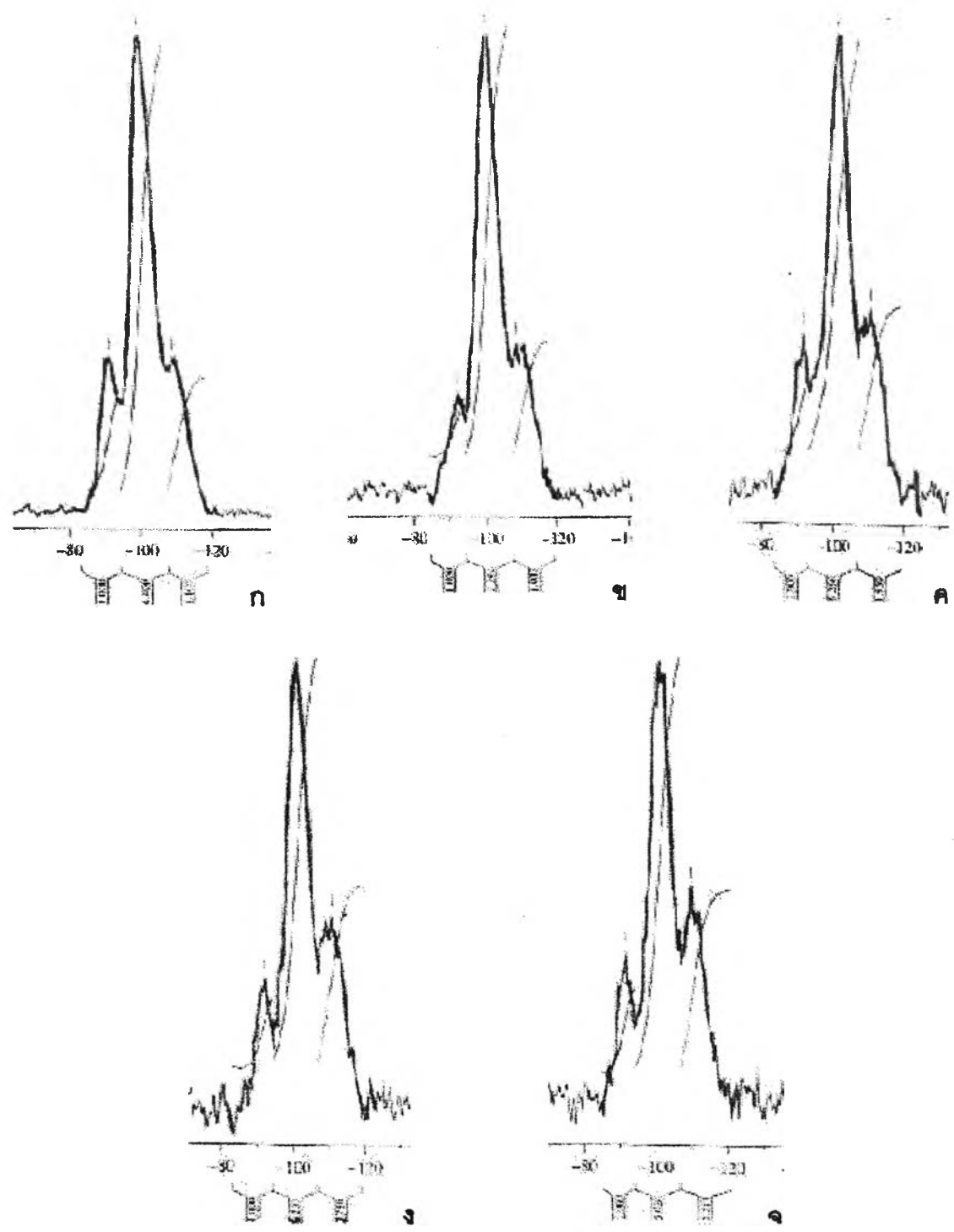


รูปที่ 5.6 พื้นผิวจากเทคนิค SEM ของวัสดุซิลิกา-เจลาตินนาโนคอมโพสิต ระบบ AOT/ HCl/ ไอโซออกเทน, เจลาติน 1.7% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (ก) ค่า $r=2$ (ข) ค่า $r=4$ (ค) ค่า $r=10$ (ง) ค่า $r=15$ และ (จ) ค่า $r=20$

ผลการทดลองของระบบที่ค่า r เพิ่มขึ้นในช่วง 4 ถึง 15 มีสัดส่วนของ Q^3 และ Q^4 เพิ่มขึ้นในแต่ละค่า r ที่ใช้ (ตารางที่ 5.2) แสดงว่า TEOS ถูกไฮโดรไลซ์และเกิดปฏิกิริยาคอนเดนเซชันได้มากขึ้นเมื่อค่า r เพิ่มขึ้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ Pouxviel และคณะ (1987) ที่ศึกษาปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของ TEOS ที่ภาวะกรด ในระบบสารละลายวัฏภาคเดียว พบว่าเมื่อค่า r สูงขึ้น ปฏิกิริยาจะเร็วขึ้น และ Klein

(1985) พบว่าในระบบที่อัตราส่วนของตัวทำละลายร่วมต่อ TEOS คงที่ เมื่อค่า r เพิ่มขึ้นความเข้มข้นของ TEOS จะเจือจางลงเนื่องจากปริมาณน้ำที่เพิ่มขึ้น เวลาที่ใช้ในการเกิดเจลจะลดลงจนถึงจุดหนึ่งแล้วจึงเพิ่มมากขึ้น (แสดงในรูปที่ 2.5) แสดงว่าปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสและคอนเดนเซชันของ TEOS จะเกิดเร็วขึ้นเมื่อค่า r เพิ่มขึ้นจนถึงจุดหนึ่งอัตราการเกิดปฏิกิริยาทั้งหมดจะลดลง เพราะความเข้มข้นของ TEOS ซึ่งเป็นสารตั้งต้นเจือจางลงมาก และค่า r ที่สูงหรือปริมาณน้ำที่มากจะส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสเพื่อสลายพันธะซิลโสน สำหรับงานวิจัยนี้เมื่อค่า r เพิ่มขึ้น ระบบจะมีความเข้มข้นของ TEOS ที่เจือจางลง ในลักษณะที่คล้ายคลึงกันจึงน่าจะเป็นสาเหตุที่ทำให้ผลการทดลองของระบบที่ใช้ค่า $r = 20$ มีสัดส่วนของ Q^3 และ Q^4 ลดลง และความเข้มข้นของ TEOS ที่เจือจางทำให้โครงข่ายของเจลาตินมีลักษณะที่เด่นกว่าซิลิกา-เจลาตินนาโนคอมโพสิตทำให้พื้นที่ผิวต่อกรัมวัสดุที่วัดได้มีค่าต่ำลง ซึ่งโครงข่ายของเจลาตินมีสมบัติของความเสถียรเชิงกลที่ต่ำกว่าซิลิกา-เจลาตินนาโนคอมโพสิต

สำหรับงานวิจัยนี้ เลือกใช้ค่า $r = 4$ เนื่องจากมีความเข้มข้นของ TEOS มากพอที่จะทำให้ได้วัสดุซิลิกา-เจลาตินนาโนคอมโพสิตที่มีลักษณะโครงสร้างที่แข็งและมีความพรุนสูงและยังให้โครงสร้างที่มีอัตราส่วน $Q^2 : Q^3 : Q^4$ เป็น 1: 4: 1 เช่นเดียวกับที่ค่า $r = 2$ ซึ่งที่ค่า $r = 2$ นี้ ความเข้มข้นของ TEOS มากกว่าที่ค่า $r = 4$ ถึง 2 เท่าซึ่งเป็นการใช้สารตั้งต้นที่สิ้นเปลือง วัสดุที่ได้ยังมีความเปราะสูงและมีผงอนุภาคเกิดขึ้นมากซึ่งเป็นลักษณะที่ไม่เหมาะสมต่อการตรึงเอนไซม์ นอกจากนี้ระบบที่ค่า $r = 2$ ยังเป็นค่าอัตราส่วนเชิงโมลของน้ำต่อ TEOS ซึ่งพอดีที่จะทำให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสและคอนเดนเซชันได้อย่างสมบูรณ์ ทำให้ไม่มีน้ำเหลืออยู่ในระบบ ส่วนในระบบที่ใช้ค่า $r = 4$ ปริมาณน้ำมากเกินไปสำหรับปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสและคอนเดนเซชันดังนั้น TEOS ในระบบจะถูกใช้หมดไปแต่ยังคงมีน้ำเหลือและถูกดูดซับไว้ที่เจลาติน น้ำที่เหลือส่วนน้อยนี้จะสร้างสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมต่อเอนไซม์ที่ถูกตรึงรูป ระบบที่ใช้ค่า $r = 4$ จึงน่าที่จะเหมาะสมต่อการนำไปใช้ในการตรึงเอนไซม์มากกว่าระบบที่ใช้ค่า $r = 2$



รูปที่ 5.7 สเปกตรัม MAS²⁹SiNMR ของวัสดุซิลิกา-เจลลาตินนาโนคอมโพสิต ระบบ AOT/ HCl/ ไฮโรออกเทน ,เจลลาติน 1.7%โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (ก) ค่า r=2 (ข) ค่า r=4 (ค) ค่า r=10 (ง) ค่า r=15 และ (จ) ค่า r=20

5.1.3 อิทธิพลของปริมาณเจลาติน

จากผลการทดลองเบื้องต้นที่ได้จากการศึกษาอิทธิพลของค่าความเป็นกรด-ด่างในหัวข้อ 5.1.2 และอิทธิพลของค่า r ในหัวข้อ 5.1.3 ที่เหมาะสมต่อการสังเคราะห์ซิลิกา-เจลาตินนาโนคอมโพสิต ได้เลือกใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์และค่า $r = 4$ ที่ปริมาณเจลาติน 1.7 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ในระบบไมโครอิมัลชันของ AOT/ ไอโซออกเทน พบว่าเกิดการแยกวัฏภาคของสารละลาย ในการทดลองชุดนี้จึงทำการแปรเปลี่ยนปริมาณเจลาตินในช่วง 1.7 ถึง 14.0 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ดังแสดงไว้ในหัวข้อ 4.3.3 เพื่อศึกษาลักษณะของวัสดุที่สังเคราะห์ได้ และไม่ต้องการให้เกิดการแยกวัฏภาค ขณะที่การเกิดเจลยังคงดำเนินอยู่เพื่อทำให้ทั้งระบบมีสมบัติจำเพาะที่เหมือนกัน อย่างไรก็ตามปริมาณเจลาตินที่เพิ่มขึ้นในระบบไมโครอิมัลชันยอมทำให้ค่า r ที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของ TEOS เปลี่ยนแปลงไปจากระบบที่ไม่มีเจลาติน (การสังเคราะห์ซิลิกาในระบบไมโครอิมัลชัน) เพราะว่าน้ำส่วนหนึ่งในระบบถูกใช้ไปในการไฮเดรชันของเจลาติน ดังนั้นผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการโซล-เจลของ TEOS ใน MBGs ย่อมเบี่ยงเบนไปจากในระบบของไมโครอิมัลชัน นอกจากนี้ในการตรึงเอนไซม์ เจลาตินซึ่งจะเกิดเป็นวัสดุเชิงประกอบกับซิลิกาเป็นตัวเติมที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ Reetz และคณะ (1996) พบว่าความเข้มข้นของเจลาตินที่เหมาะสมจะสามารถส่งเสริมแอกทิวิตี้ของเอนไซม์ที่ถูกตรึงรูปได้ สำหรับการทดลองชุดนี้หลังจากที่ปฏิกิริยาดำเนินไปเป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วทิ้งไว้ภายในภาชนะปิดเพื่อดูความเสถียรของเจล พบว่าเมื่อเวลาผ่านไประยะหนึ่งในแต่ละปริมาณเจลาตินที่ใช้ เกิดการแยกวัฏภาคของเจลและของเหลว ลักษณะของเจลและเวลาในการแยกของวัฏภาคแสดงในตารางที่ 5.3 และรูปที่ 5.8

ตารางที่ 5.3 ปริมาณเจลาตินที่มีผลต่อการแยกวัฏภาคของเจลและของเหลว ในระบบ AOT/ ไอโซออกเทน, สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์ ปริมาณคงที่ โดยที่ค่า $r = 4$ แสดงค่าโดยประมาณของเวลาในการแยกชั้นและปริมาตรของเจลและของเหลวที่แยกตัว

เจลาติน (%โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)	แยกชั้นที่ (ชั่วโมง)	เจล (มิลลิลิตร)	ของเหลว (มิลลิลิตร)	ลักษณะของเจลที่แห้ง
0	24	5	11	เจลใสลักษณะเหมือนกระจก
1.7	24	5.5	8.5	เจลแข็งมีสีขาวขุ่น แต่เปราะแตกเป็นผงได้ง่าย พื้นผิวมีอนุภาคสีขาวเกาะอยู่
3	48	5.7	8.0	เจลใส แข็ง พื้นผิวมีอนุภาคสีขาวเกาะอยู่เล็กน้อย ดูดความชื้นแล้วจะอ่อนตัว
4	48	6.0	8.0	เจลใส แข็ง พื้นผิวมีอนุภาคสีขาวเกาะอยู่เล็กน้อย ดูดความชื้นแล้วจะอ่อนตัว
5	48	6.5	7.5	เจลใส แข็ง พื้นผิวมีอนุภาคสีขาวเกาะอยู่เล็กน้อย ดูดความชื้นแล้วจะอ่อนตัว
6	48	7	7.4	เจลใส แข็ง พื้นผิวมีอนุภาคสีขาวเกาะอยู่เล็กน้อย ดูดความชื้นแล้วจะอ่อนตัว
7	48	9	6.0	เจลใส แข็ง ไม่มีอนุภาคมาเกาะที่พื้นผิว ดูดความชื้นแล้วจะอ่อนตัว
8	มากกว่า 120	14	-	เจลใส แข็ง ดูดความชื้นแล้วจะอ่อนตัว ไม่มีอนุภาคมาเกาะที่พื้นผิว
10	มากกว่า 120	14	-	เจลใส แข็ง ดูดความชื้นแล้วจะอ่อนตัว ไม่มีอนุภาคมาเกาะที่พื้นผิว
12	ขณะที่ทดลอง	12	3.2	เจลใส แข็งเหนียว ไม่หักง่าย ทิ้งไว้นานจะขึ้นได้ ไม่มีอนุภาคมาเกาะที่พื้นผิว
14	ขณะที่ทดลอง	14	2.0	เจลใส แข็งเหนียว ไม่หักง่าย ทิ้งไว้นานจะขึ้นได้ ไม่มีอนุภาคมาเกาะที่พื้นผิว

จากตารางที่ 5.3 จะสามารถสรุปพฤติกรรมการแยกวัฏภาคของเจลและของเหลวออกเป็น 3 ช่วงของปริมาณเจลาตินที่ใช้ในการทดลองดังนี้

- ที่ปริมาณเจลาตินในช่วง 1.7 ถึง 7 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เจลที่สังเคราะห์ได้เกิดการแยกวัฏภาคเป็นเจลที่โปร่งแสงและของเหลวใสภายใน 3 วัน ภายในภาชนะปิด ดังแสดงในรูปที่ 5.8 การแยกของวัฏภาคที่เกิดขึ้นอาจเป็นผลมาจาก 2 ปัจจัยร่วมกันคือ ประการที่หนึ่ง ปริมาณเจลาตินน้อยเกินไปจึงไม่สามารถเกิดเป็นโครงข่ายเจลที่ครอบคลุมสารละลายทั้งหมดซึ่งมีปริมาณมากไว้ได้ พฤติกรรมเช่นนี้คล้ายคลึงกับระบบของการละลายเจลาตินในไมโครอิมัลชันเมื่อปริมาณเจลาตินน้อยเกินไปจะไม่สามารถเกิดเป็นโครงข่ายของ MBGs ได้ แสดงในรูปที่ 3.5 I (Haering และ Luisi, 1986) ประการที่สอง ในปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของ TEOS ที่เกิดขึ้น เมื่อใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาพบว่าปฏิกิริยาเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วทำให้อेतานอลเกิดขึ้นเป็นปริมาณมากส่งผลให้เกิดการแยกของวัฏภาคเช่นเดียวกับที่กล่าวไว้แล้วในส่วนของผลของค่าความเป็นกรด-ด่าง หัวข้อ 5.1.1)

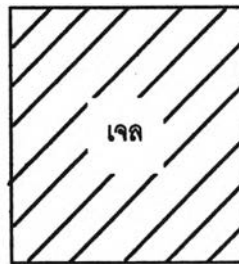
- ที่ปริมาณเจลาตินในช่วง 8 ถึง 10 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เจลที่สังเคราะห์ไม่เกิดการแยกวัฏภาค ภายใน 5 วัน ภายในภาชนะปิด แสดงในรูปที่ 5.8 น่าจะเป็นผลมาจากปริมาณเจลาตินที่เพิ่มขึ้นทำให้สามารถเกิดเป็นโครงข่ายเจลที่ครอบคลุมสารละลายทั้งหมดไว้ได้ในเบื้องต้น ปริมาณน้ำที่มากขึ้นถูกใช้ไปในการละลายของเจลาติน ทำให้ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของ TEOS ไม่สามารถเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วเท่ากับระบบที่มีปริมาณเจลาตินต่ำในเบื้องต้น เอทานอลที่เกิดขึ้นจึงมีปริมาณไม่มากพอที่จะทำให้ระบบเสถียร งานวิจัยนี้คาดว่าภายหลังจากที่เอทานอลเกิดขึ้นมาก วัฏภาคของไมโครอิมัลชันที่มีความเสถียรอยู่ภายในโครงข่ายของเจลาตินจะเสถียรไปทำให้เกิดการแยกวัฏภาคของเจลาตินออกจาก วัฏภาคของไมโครอิมัลชัน

- ที่ปริมาณเจลาตินในช่วง 11 ถึง 14 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เจลที่สังเคราะห์ได้เกิดการแยกวัฏภาคขณะทดลองเป็นเจลที่โปร่งแสงและของเหลวใสแสดงในรูปที่ 5.8 การแยกของวัฏภาคที่เกิดขึ้นน่าจะเป็นผลจากปริมาณเจลาตินที่ใช้ในลักษณะเดียวกันกับที่เกิดขึ้นในระบบของออร์แกนเจลที่มีปริมาณเจลาตินสูง (ดังแสดงในรูปที่ 3.5 III) (Haering และ Luisi, 1986) ซึ่งในระบบออร์แกนเจลงานวิจัยนี้ได้ทำการทดลองพบว่าเจลาตินสามารถละลายอยู่ในไมโครอิมัลชันได้จนกระทั่งความเข้มข้นของเจลาตินมากกว่า 10 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จะเกิดการแยกวัฏภาคของตัวทำละลายอินทรีย์ (ไฮโซออกเทน) ออกจากเจล น่าจะเป็นเพราะว่าในระบบที่ปริมาณเจลาตินเพิ่มมากขึ้น ปริมาณน้ำในระบบน้อยเกินไปที่จะสามารถละลายเจลาตินปริมาณที่มากนี้ได้เหมาะสม ทำให้โมเลกุลของเจลาตินสามารถละลายได้เพียงบางส่วนซึ่งพอที่จะเกิดพันธะเชื่อมขวางกันทางกายภาพเป็นโครงสร้างร่างแหของสายเจลาตินที่มีลักษณะเป็นเกลียวได้แต่โครงข่ายเจลที่เกิดขึ้นนี้ไม่สามารถขยายตัวห่อหุ้มตัวทำละลายอินทรีย์ได้ทั้งหมด

จึงเกิดการแยกวัฏภาคของตัวทำละลายอินทรีย์ออกจากเจล นอกจากนี้งานวิจัยนี้คาดว่า TEOS ที่ละลายอยู่ในวัฏภาคของไอโซออกเทนซึ่งจะค่อยๆ แพร่เข้าไปเกิดปฏิกิริยากับน้ำในไมโครอิมัลชัน จะสามารถแพร่ผ่านโครงข่ายของเจลลิตินได้น้อยเนื่องจากเจลของเจลลิตินที่ค่อนข้างหนาแน่น TEOS จึงเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่พื้นผิวของเจล ทำให้เจลของเจลลิตินมีความแข็งตัวมากยิ่งขึ้น



เจลลิติน 1.7-7.0 %
น้ำหนัก/ปริมาตร



เจลลิติน 8.0-10.0 %
น้ำหนัก/ปริมาตร



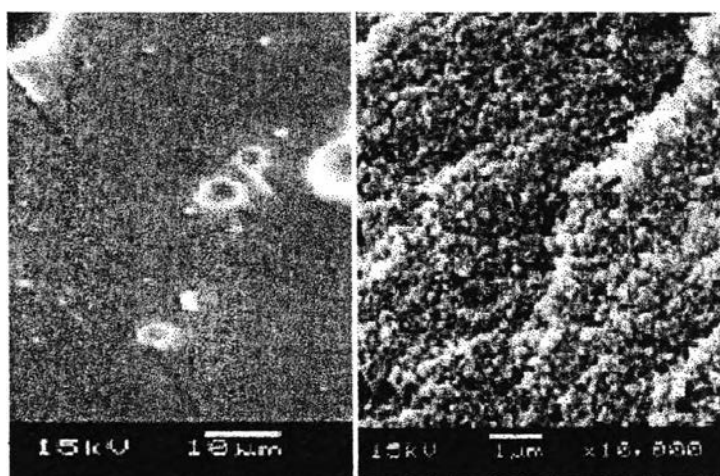
เจลลิติน 11.0-14.0 %
น้ำหนัก/ปริมาตร

รูปที่ 5.8 ปริมาณเจลลิตินที่มีผลต่อการแยกวัฏภาคของเจลและของเหลว ในระบบ AOT/ ไอโซออกเทน/ สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์ โดยที่ค่า $r = 4$ แสดงปริมาณโดยประมาณของเจลและของเหลวที่แยกตัว

สำหรับงานวิจัยของ Watzke และ Dieschbourg (1994) ที่สังเคราะห์วัสดุซิลิกา-เจลลิตินนาโนคอมโพสิตซึ่งใช้ TMOS และสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์เป็นสารตั้งต้นสำหรับกระบวนการโซล-เจลพบว่าปริมาณเจลลิตินมีผลต่อการแยกวัฏภาคของระบบเช่นเดียวกัน เมื่อเจลลิตินน้อยกว่า 0.1 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โครงสร้างที่เกิดขึ้นมีลักษณะเป็นแก้วโปร่งใส (transparent glass body) เมื่อปริมาณเจลลิตินมากกว่า 0.7% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ไม่เกิดการแยกวัฏภาคขณะที่เกิดเจล จะเห็นได้ว่างานวิจัยนี้และงานวิจัยของ Watzke และ Dieschbourg (1994) เปรียบเทียบเจลลิตินที่ทำให้ได้เจลของซิลิกา-เจลลิตินนาโนคอมโพสิตที่เสถียรแตกต่างกันถึงประมาณ 8-10 เท่า เนื่องจากในเบื้องต้นงานวิจัยนี้ได้ทำการละลายเจลลิตินลงในระบบไมโครอิมัลชันของ AOT/ ไอโซออกเทน $W_0=30$ ด้วยเจลลิติน 1.7 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตรเช่นเดียวกับ Watzke และ Dieschbourg (1994) แต่ระบบที่เกิดขึ้นไม่เป็นออร์แกนเจล งานวิจัยนี้จึงได้ทดลองเพิ่มปริมาณเจลลิตินให้สูงขึ้น ซึ่งจากการแยกของวัฏภาคดังกล่าวงานวิจัยนี้คาดว่าเจลที่สังเคราะห์ได้จากเจลลิตินที่มีความเข้มข้นในช่วง 8 ถึง 10 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตรน่าจะเหมาะสมที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในการตรึงเอนไซม์ อย่างไรก็ตามได้ทดลองนำเจลที่สังเคราะห์ได้จากเจลลิตินที่มีความ

เข้มข้น 8 10 และ 12 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ภายหลังจากทิ้งไว้ในภาชนะปิด 5 วัน นำไปวิเคราะห์พื้นผิวภายนอกด้วยเทคนิค SEM โดยเปรียบเทียบกับระบบที่ไม่มีเจลาตินและระบบที่ใช้เจลาตินปริมาณน้อยเพียง 1.7 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ได้จากหัวข้อที่ 5.1.1 แสดงในรูปที่ 5.9 การวิเคราะห์พื้นที่ผิวด้วยเทคนิค BET และโครงสร้างของซิลิกาด้วยเทคนิค MAS²⁹SiNMR แสดงในตารางที่ 5.4 จากลักษณะตัวอย่างที่สังเคราะห์พบว่า ระบบที่ไม่มีเจลาตินซิลิกาเจลที่สังเคราะห์ได้มีลักษณะเป็นกระจุกใส เมื่อเพิ่มเจลาตินเป็น 1.7 % ตัวอย่างมีความชุ่มเพิ่มขึ้นเพราะมีอนุภาคสีขาวมาเกาะที่พื้นผิว เมื่อเพิ่มเจลาตินมากขึ้นอีก (8 10 และ 12 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ลักษณะของตัวอย่างที่สังเคราะห์ได้เป็นเจลที่ค่อนข้างใส มีความเหนียว และการบวมตัวในน้ำได้มากขึ้นซึ่งเป็นลักษณะของออร์แกนเจลที่เด่นกว่าซิลิกา

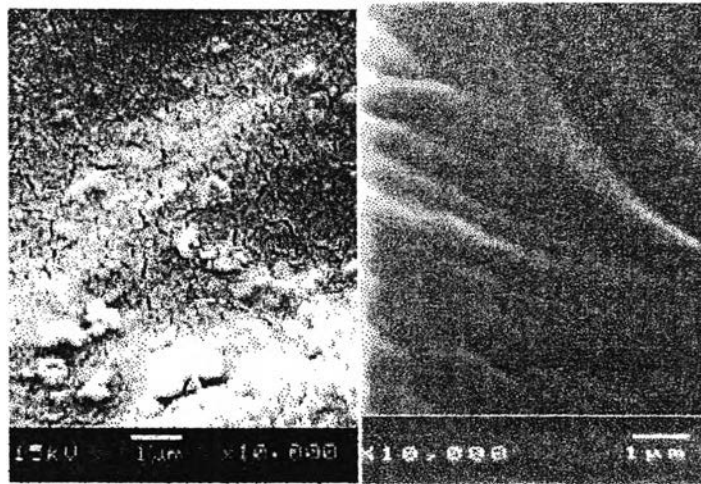
การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค SEM จากรูปที่ 5.9 พื้นผิวของซิลิกาเจลที่ไม่มีเจลาตินมีลักษณะที่เรียบเป็นเนื้อเดียวกัน ที่กำลังขยาย 10,000 เท่า ก็มีลักษณะเช่นเดียวกัน(ไม่มีภาพประกอบ) การเพิ่มเจลาติน 1.7 % จะทำให้วัสดุที่ได้มีความพรุนมากขึ้น เมื่อเจลาตินเพิ่มขึ้นเป็น 8 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จะมีลักษณะที่ค่อนข้างเป็นเนื้อเดียวกันมากขึ้น (ที่ปริมาณเจลาตินเพิ่มขึ้นเป็น 10 และ 12 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ก็มีลักษณะที่ค่อนข้างเป็นเนื้อเดียวกันคล้ายคลึงกับตัวอย่างที่สังเคราะห์จากเจลาติน 8 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (ไม่แสดงภาพ)) และพื้นผิวจะมีลักษณะใกล้เคียงกับออร์แกนเจลมากยิ่งขึ้น



ก

ข

รูปที่ 5.9



ค

ง

รูปที่ 5.9 พื้นผิวจากเทคนิค SEM ของเจลที่สังเคราะห์จากระบบ AOT/ HCl/ ไฮโซออกเทน สารละลายกรด ไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์ (ก) ซิลิกาเจล ไม่มีเจลาคติน $r=4$ (ข) วัสดุซิลิกา-เจลาคตินนาโนคอมโพสิต เจลาคติน 1.7 %โดยน้ำหนักต่อปริมาตร $r = 4$ (ค) วัสดุซิลิกา-เจลาคตินนาโนคอมโพสิต เจลาคติน 8 %โดยน้ำหนักต่อ ปริมาตร $r = 4$ (ง) MBGs เจลาคติน 1.7 %โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

การวิเคราะห์พื้นที่ผิวด้วยเทคนิค BET แสดงในตารางที่ 5.4 พบว่าค่าที่วัดได้มีค่าต่ำมาก สอดคล้องกับภาพถ่ายด้วยเทคนิค SEM ซึ่งเจลาคติน 1.7 %โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จะมีพื้นที่ผิวสูงกว่า ตัวอย่างอื่น ๆ เมื่อปริมาณเจลาคตินเพิ่มมากขึ้น (8 10 12 %โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ระบบจะมีโครงสร้างของออร์แกนเจลที่เด่นพื้นที่ผิวที่วัดได้จึงมีค่าต่ำลงพอ ๆ กัน งานวิจัยนี้ยังไม่พบแหล่งอ้างอิงหรืองานวิจัย ในลักษณะเดียวกันใช้เทคนิค BET ในการวัดพื้นที่ผิวของวัสดุซิลิกา-เจลาคตินนาโนคอมโพสิตและMBGs แต่อย่างไรก็ตาม Rees และคณะ (1995) ได้ศึกษาระบบ MBGs พบว่าเมื่อแช่ MBGs ในตัวทำละลาย อินทรีย์ที่ไม่มีขั้ว สารลดแรงตึงผิว เจลาคติน และเอนไซม์จะยังคงถูกขังอยู่ภายในเมตริกซ์เจล กระบวนการ แพร์ของสารตั้งต้นและผลิตภัณฑ์ที่สามารถละลายได้ในน้ำมันสามารถเกิดขึ้นผ่านบริเวณวัฏภาคน้ำมัน และซึมผ่านตัวเมตริกซ์เจลเองได้อย่างง่าย ๆ งานวิจัยนี้จึงคาดว่าแม้ว่าซิลิกา-เจลาคตินนาโนคอมโพสิตที่ สังเคราะห์จะมีพื้นที่ผิวต่อกรัมที่ต่ำแต่ก็น่าที่จะสามารถนำมาใช้เป็นตัวพองได้ดี

ตารางที่ 5.4 ผลการวิเคราะห์พื้นที่ผิวของตัวอย่างด้วยเทคนิค BET และโครงสร้างของซิลิกาด้วยเทคนิค MAS ^{29}Si NMR

เจลาติน(%โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)	พื้นที่ผิว (m^2/g)	$Q^2: Q^3: Q^4$
0	0.40	1: 7: 1
1.7	1.83	1: 4: 1
8.0	0.29	1: 5: 2
10.0	0.29	1: 4: 2
12.0	0.26	1: 5: 2

การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค MAS ^{29}Si NMR แสดงในตารางที่ 5.4 พบว่าการสังเคราะห์ที่ปริมาณเจลาตินต่างๆ กันจะได้โครงสร้างที่มีอัตราส่วนของ $Q^2: Q^3: Q^4$ พอๆ กันแสดงว่าโครงสร้างของซิลิกาที่เกิดขึ้นมีลักษณะเหมือนกัน เมื่อปล่อยให้ปฏิกิริยาดำเนินไปจนกระทั่งเกิดการแยกตัวภาควัดดังกล่าว

จากผลการทดลองในหัวข้อนี้งานวิจัยนี้คาดว่าซิลิกา-เจลาตินนาโนคอมโพสิตที่สังเคราะห์จากเจลาตินที่มีความเข้มข้น 8 %โดยน้ำหนักต่อปริมาตร น่าจะเหมาะสมต่อการตรึงเอนไซม์มากที่สุด เนื่องจากปริมาณเจลาตินที่น้อยกว่าและมีลักษณะออร์แกนเจลที่เด่นจะทำให้มีน้ำที่เป็นอิสระที่เหลือจากการใช้ในการเกิดเจลอยู่ภายในไมโครอิมัลชันมากกว่าในระบบที่มีปริมาณเจลาตินมากและปริมาณน้ำอิสระนี้จะช่วยทำหน้าที่เป็นตัวทำลายเอนไซม์และช่วยควบคุมให้เอนไซม์มีลักษณะโครงสร้างที่ใกล้เคียงกับลักษณะธรรมชาติของเอนไซม์ได้มากที่สุด และถึงแม้ว่าโครงข่ายของเจลาตินเด่นแต่โครงข่ายของซิลิกาที่เกิดขึ้นร่วมกันเป็นวัสดุเชิงประกอบซิลิกา-เจลาตินน่าจะทำให้สมบัติและความเสถียรของเจลเพิ่มขึ้นจากระบบออร์แกนเจลซึ่งได้มีผู้ทำการศึกษามาแล้ว (Watzke และDieschbourg, 1994)

5.1.4 อิทธิพลของค่าความเป็นกรด-ด่างเมื่อใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา 2 ชนิดในการสังเคราะห์วัสดุซิลิกา-เจลาตินนาโนคอมโพสิต

เนื่องจากในหัวข้อ 5.1.3 ในระบบที่มีความเข้มข้นของเจลาตินสูงจะทำให้โครงข่ายของเจลาตินเด่นกว่าซิลิกา-เจลาตินนาโนคอมโพสิตจึงได้ทำการทดลองเร่งกระบวนการโซล-เจลโดยใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส แล้วจึงตามด้วยสารละลายแอมโมเนีย 30 % โดยปริมาตร ผลการวิเคราะห์พื้นที่ผิวของตัวอย่างด้วยเทคนิค BET และโครงสร้างของซิลิกาด้วยเทคนิค MAS²⁹SiNMR แสดงในตารางที่ 5.5 ขณะทำการทดลองทั้งในระบบที่ใช้เจลาติน 8 และ 14 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เมื่อเพิ่มเบสเข้าไปในระบบ มีอนุภาคสีขาวเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว แสดงว่าปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสและคอนเดนเซชันของ TEOS เกิดเร็วขึ้นอย่างเห็นได้ชัด เป็นเพราะว่าการเพิ่มสารละลายแอมโมเนียเป็นการเพิ่มทั้งสารตั้งต้น(H₂O)และตัวเร่งปฏิกิริยา(NH₄OH) อีกทั้งสามารถปรับค่าความเป็นกรด-ด่างได้มาก (จากเดิมค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 1 เพิ่มขึ้นถึง 12) ซึ่ง Brinker และคณะ (1990) ได้เสนอว่าเมื่อความเป็นเบสและค่า r เพิ่มขึ้น (จากเดิม r น้อยกว่าหรือเท่ากับ 4) ผลิตภัณฑ์จากกระบวนการโซล-เจลจะค่อย ๆ เปลี่ยนจากลักษณะที่เป็นสายโพลิเมอร์ที่มีสาขาไปเป็นอนุภาคและจะเห็นได้จากตารางที่ 5.5 อัตราส่วน Q³: Q⁴ เพิ่มขึ้นเมื่อเบสเพิ่มขึ้น สำหรับตัวอย่างที่สังเคราะห์จากเจลาติน 8 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร อนุภาคสีขาวกระจายตัวอย่างทั่วถึง และเกิดความไม่เป็นเนื้อเดียวกันของวัสดุเพิ่มขึ้น สามารถสังเกตได้จากภาพถ่ายด้วยเทคนิค SEM ที่แสดงในรูปที่ 5.10 และค่าพื้นที่ผิว (จากสมการ BET) สูงขึ้นกว่าตัวอย่างที่ไม่เพิ่มเบส แต่อย่างไรก็ตามเมื่อใช้เทคนิค SEM ที่กำลังขยายสูงขึ้นก็ยังคงไม่เห็นความพรุน สำหรับตัวอย่างที่สังเคราะห์จากเจลาติน 14 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ซึ่งเป็นปริมาณของเจลาตินที่สูงมาก การเพิ่มเบสทำให้อนุภาคสีขาวเกิดขึ้น แต่การกระจายตัวของอนุภาคซิลิกาบนออร์แกนเจลบางกว่าที่เจลาติน 8 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เจลมีสีขาวขุ่น และเกิดความไม่เป็นเนื้อเดียวกันของวัสดุเพิ่มขึ้นจากระบบที่ไม่เพิ่มเบส

ตารางที่ 5.5 ผลการวิเคราะห์พื้นที่ผิวของตัวอย่างด้วยเทคนิค BET และโครงสร้างของซิลิกาด้วยเทคนิค MAS²⁹SiNMR และลักษณะของตัวอย่างที่สังเคราะห์

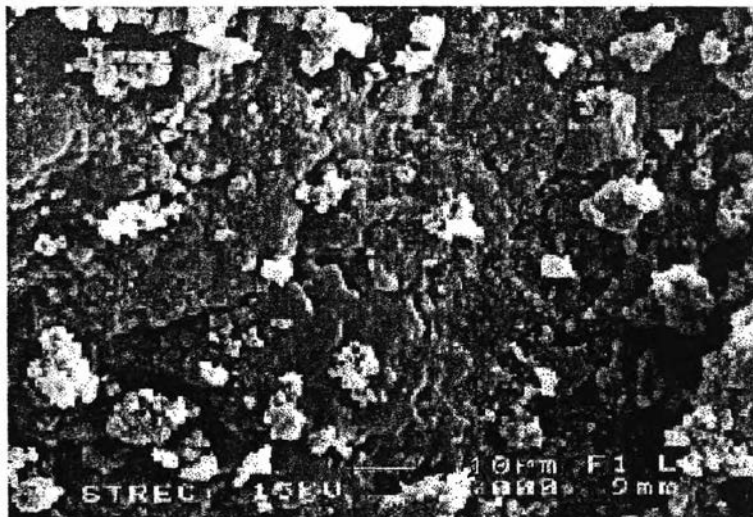
การเพิ่ม NH ₄ OH เป็นขั้นตอนที่ 2	เจลาติน 8 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร			เจลาติน 14 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร	
	พื้นที่ผิว (m ² /g)	Q ² :Q ³ :Q ⁴	ลักษณะตัวอย่าง	Q ² :Q ³ :Q ⁴	ลักษณะตัวอย่าง
ไม่เพิ่ม	-	1: 6: 3	เจลใส แข็ง ดูดความชื้น แล้วจะอ่อนตัว ไม่มี อนุภาคมาเกาะที่พื้นผิว	1: 6: 4	เจลใส แข็ง เหนียว ไม่หัก ง่ายทิ้งไว้นานจะขึ้นได้ ไม่ มีอนุภาคมาเกาะที่พื้นผิว
NH ₄ OH 0.7 ml, r =6	0.79	1: 9: 4	ก้อนเจลมีสีขาวทึบแสง แห้งจะเปราะหักได้ง่าย	1: 15: 8	ก้อนเจลมีสีขาวทึบ แห้งจะ เปราะหักได้ง่าย
NH ₄ OH 1.4 ml, r =8	0.69	1: 14: 5	ก้อนเจลมีสีขาวทึบแสง แห้งจะเปราะหักได้ง่าย	-	-

ก

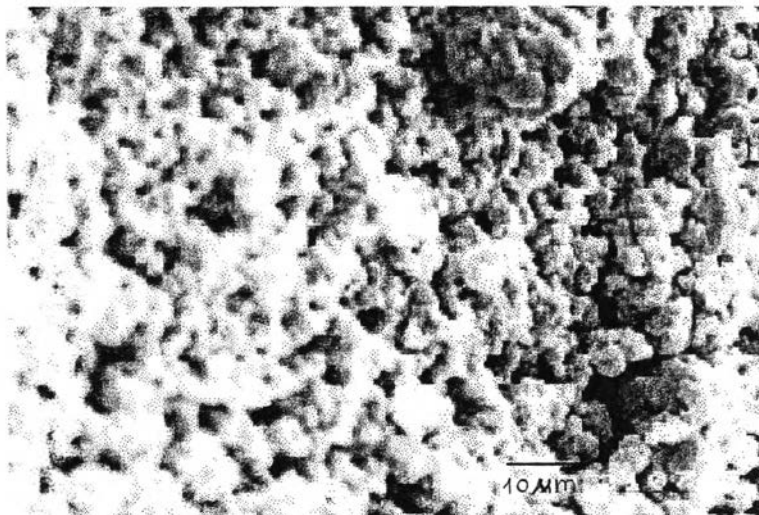


รูปที่ 5.10

ข



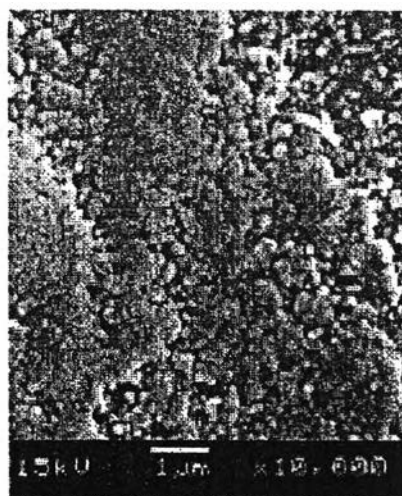
ค



รูปที่ 5.10 พื้นผิวจากเทคนิค SEM ของวัสดุซิลิกา-เจลนาโนคอมโพสิต ระบบ AOT/ สารละลายกรด ไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์/ ไอโซออกเทน, เจลาติน 8 %โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และสารละลายแอมโมเนีย 30%โดยปริมาตร (ก) ไม่เพิ่มสารละลายแอมโมเนีย, ค่า $r = 4$ (ข) เพิ่มสารละลายแอมโมเนีย 0.7 มิลลิลิตร, $r = 6$ (ค) เพิ่มสารละลายแอมโมเนีย 1.4 มิลลิลิตร, $r = 8$



ก



ข

รูปที่ 5.11 พื้นผิวจากเทคนิค SEM ของวัสดุซิลิกา-เจลาตินนาโนคอมโพสิต ระบบ AOT/ สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์/ ไอโซออกเทน, เจลาติน 14 %โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และสารละลายแอมโมเนีย 30%โดยปริมาตร (ก) ไม่เพิ่มสารละลายแอมโมเนีย, ค่า $r = 4$ (ข) เพิ่มสารละลายแอมโมเนีย 0.7 มิลลิลิตร, $r = 6$

5.1.5 สมบัติของซิลิกา-เจลาตินนาโนคอมโพสิตที่สังเคราะห์

(1) ความเสถียรตัวในน้ำ

เมื่อนำซิลิกา-เจลาตินนาโนคอมโพสิตที่เตรียมจาก(หัวข้อที่ 5.1.3)เจลาติน 8 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์ เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ค่า $r = 4$ และยังไม่ได้ตรึงเอนไซม์ นำไปแช่น้ำหลังจาก 1 วัน พบว่าเจลบวมตัวประมาณ 1.5 เท่า ภายใน 1 สัปดาห์เจลบวมตัวเพียงประมาณ 2 เท่าแล้วค่อนข้างคงที่ เมื่อแยกเจลออกมาเจลมีลักษณะที่เหนียวเมื่อใช้มือบีบจะและ เจลมีความเสถียรอยู่พอสมควรเมื่อเปรียบเทียบกับ MBGs ที่เตรียมจากระบบเช่นเดียวกัน ซึ่ง MBGs จะบวมน้ำ, ละลายแล้วแตกตัวออกหลังจากที่แช่อยู่ในน้ำภายใน 1 วันเท่านั้น ในระบบที่ปริมาณเจลาตินเพิ่มขึ้น ทั้งซิลิกา-เจลาตินนาโนคอมโพสิตและ MBGs จะบวมตัวมากขึ้นเมื่อแช่ในน้ำ ในกรณีของซิลิกา-เจลาตินนาโนคอมโพสิตที่เตรียมจากการเร่งปฏิกิริยาของกระบวนการไซล-เจลด้วยเบสแอมโมเนียเป็นชั้น

ตอนที่ 2 (จากหัวข้อที่ 5.1.4) ในระบบที่ใช้เจลาติน 8 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร พบว่าวัสดุที่สังเคราะห์ได้จะไม่เสถียรเมื่อถูกแช่อยู่ในน้ำ เจลจะยุบแล้วละลายเป็นอนุภาคสีขาวกระจายตัวอยู่ในน้ำภายในเวลา 20 นาทีเท่านั้น ที่ปริมาณเจลาตินเพิ่มขึ้น (14% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) เจลจะบวมตัวประมาณ 3-4 เท่าภายใน 1 วัน แล้วจะแตกตัวใน 1 สัปดาห์ สรุปได้ว่าซิลิกา-เจลาตินนาโนคอมโพสิตที่เตรียมจากการเร่งปฏิกิริยาด้วยเบสในขั้นตอนที่ 2 (จากหัวข้อที่ 5.1.4) จะมีความเสถียรในน้ำต่ำ แต่ในระบบที่มีปริมาณเจลาตินเพิ่มมากขึ้น (เป็น 14 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ทั้งการเร่งปฏิกิริยาด้วยกรดไฮโดรคลอริกเพียงขั้นตอนเดียว (จากหัวข้อที่ 5.1.3) และการเร่งปฏิกิริยาด้วยเบสเป็นขั้นตอนที่ 2 (จากหัวข้อที่ 5.1.4) หากมีการปรับค่า W_0 โดยการเพิ่มปริมาณน้ำในระบบที่ใช้ในการสังเคราะห์อาจจะทำให้ได้เจลที่มีความเสถียรในน้ำมากขึ้น เพราะในเบื้องต้นน้ำจะทำให้เจลาตินละลายตัวออกเป็นลักษณะที่เป็นเกลียวเกิดเป็นโครงสร้างของ MBGs ที่อยู่สมดุลย์กับโมเชลล์ด้วย AOT (Jenta และคณะ, 1997) งานวิจัยนี้เชื่อว่าจะทำให้ TEOS แพร่เข้าไปเกิดปฏิกิริยาได้มากซิลิกา-เจลาตินนาโนคอมโพสิตที่สังเคราะห์ได้ก็มีความเสถียรตัวในน้ำมากขึ้น นอกจากนี้ได้ทำการทดสอบความเสถียรในน้ำของเอนไซม์ตรึงรูป (0.02 กรัมเอนไซม์/กรัมตัวพุง) บนซิลิกา-เจลาตินนาโนคอมโพสิตที่เตรียมจากเจลาติน 8 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์ ค่า $r = 4$ พบว่ามีความเสถียรเช่นเดียวกับตัวอย่างที่ยังไม่ได้ตรึงเอนไซม์ที่เตรียมจากหัวข้อที่ 5.1.3 ที่สังเคราะห์จากระบบเช่นเดียวกัน

(2) ความเสถียรตัวในตัวทำละลายอินทรีย์

Laane และคณะ (1987) ได้เสนอค่า $\log P$ ซึ่งเป็นค่าที่นิยมใช้ในการเลือกตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีอิทธิพลต่อโครงสร้างสามมิติของเอนไซม์ ตัวทำละลายอินทรีย์อาจส่งผลในการยับยั้งการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์เนื่องจากทำให้เอนไซม์สูญเสียสภาพทางธรรมชาติไป โดยที่ $\log P$ แสดงถึงความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ สามารถแบ่งตัวทำละลายอินทรีย์ออกเป็น 3 ช่วงของค่า $\log P$ ดังต่อไปนี้ เมื่อตัวทำละลายมีค่า $\log P < 2$ เป็นตัวทำละลายที่มีขั้วทำให้เอนไซม์มีค่าแอกทิวตี้ต่ำเนื่องจากการสูญเสียสภาพโครงสร้างทางธรรมชาติของเอนไซม์ เมื่อตัวทำละลายมีค่า $\log P$ อยู่ระหว่าง 2 ถึง 4 จัดเป็นตัวทำละลายที่ใช้กันอย่างกว้างขวาง และกลุ่มสุดท้ายมีค่า $\log P > 4$ จัดเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดไม่มีขั้วจึงมีสมบัติในการละลายสารตั้งต้นที่ไม่มีขั้วได้ดีเช่น ไอโซออกเทน ($\log P = 4.5$) งานวิจัยนี้ได้ทดลองนำเอนไซม์ตรึงรูปบนซิลิกา-เจลาตินนาโนคอมโพสิตที่เตรียมได้จากเจลาติน 8 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์ ที่ค่า $r = 4$ ขนาดประมาณ 10 ลูกบาศก์มิลลิเมตร ไปแช่ในตัวทำละลายอินทรีย์ทั้ง 3 ช่วงของค่า $\log P$ ซึ่งได้แก่ อะซิโตน ($\log P = -0.23$) เบนซีน ($\log P = 2$) เฮกเซน ($\log P$

= 3.2) ไซโคลเฮกเซน ($\log P = 3.2$) เฮปเทน ($\log P = 4$) และไอโซออกเทน ($\log P = 4.5$) พบว่าซิลิกา-เจลลาตินนาโนคอมโพสิตมีความเสถียรในตัวทำละลายหลายชนิด ปริมาตรภายหลังจากการแช่ไว้ในแต่ละตัวทำละลาย 5 วัน ขยายตัวขึ้นประมาณ 2 เท่า เมื่อแยกเจลออกมา เจลที่แห้งจะหดตัวลงและมีลักษณะคล้ายกับก่อนที่จะแช่ ในตัวอย่างที่แช่ในเบนซีน ($\log P = 2$) ตัวอย่างจะบวมตัวและมีความใสเพิ่มขึ้นจนกลมกลืน เป็นสีเดียวกับตัวทำละลายอินทรีย์ ภายหลังจากที่ตัวอย่างถูกปล่อยให้แห้งในบรรยากาศ เจลจะหดตัวลงแต่จะยังคงความใส ส่วนตัวอย่างที่แช่ในอะซิโตน ($\log P = -0.23$) เจลจะบวมตัวและมีความขาวเพิ่มขึ้น หลังจากที่ยกเจลออกมา เจลจะหดตัวลงและมีลักษณะคล้ายกับก่อนที่จะแช่ สำหรับงานวิจัยของ Watzke และ Dieschbourg (1994) พบว่าซิลิกา-เจลลาตินนาโนคอมโพสิตที่เตรียมจาก TMOS มีความเสถียรในตัวทำละลายอินทรีย์หลายชนิด (อะซิโตน เมทานอล ($\log P = -0.75$) เอทานอล ($\log P = -0.24$) ไซโคลเฮกเซน และไดคลอโรมีเทน) แต่มันจะบวมตัวเมื่อแช่ในคลอโรฟอร์ม ($\log P = 2$) และมีความใสเพิ่มขึ้น เมื่อแห้งเจลจะหดตัวแน่นโดยที่ไม่แตกและยังคงความใส ในงานวิจัยนี้เลือกใช้สารละลายไอโซออกเทนเป็นตัวกลาง (reaction medium) ในการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ตริงรูปซึ่งซิลิกา-เจลลาตินนาโนคอมโพสิตที่สังเคราะห์ได้จะมีความเสถียรในไอโซออกเทนอยู่พอสมควร และเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดไม่มีขั้วซึ่งจะไม่ทำให้เอนไซม์สูญเสียสภาพโครงสร้างทางธรรมชาติไป

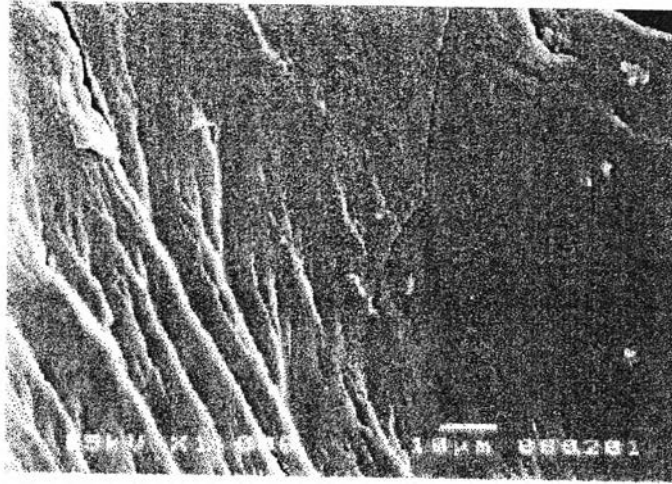
(3) ความเสถียรตัวต่อความร้อน

จากงานวิจัยของ Watzke และ Dieschbourg (1994) กล่าวว่า MBGs จะหลอมเหลวที่อุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียสเท่านั้นเมื่อเปรียบเทียบกับซิลิกา-เจลลาตินนาโนคอมโพสิต เจลจะยังคงความเสถียรถึงอุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส จากการวิเคราะห์ทางอุณหภูมิ (Thermal analysis) น้ำและคาร์บอนซึ่งเป็นองค์ประกอบพื้นฐานจะสลายตัวไปเหลือแต่โครงสร้างของซิลิกาที่แน่น (a densified silica body) ที่เกิดจากซิลิกา-เจลลาตินนาโนคอมโพสิต ในงานวิจัยนี้ได้ทดลองนำเจลที่เตรียมได้จากเจลลาติน 8 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จากหัวข้อที่ 5.1.3 ไปเผาด้วยเทคนิค TGA (Thermal gravimetric analysis) ที่อุณหภูมิสูงถึง 1200 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง และอาศัยเทคนิค SEM เพื่อศึกษาพื้นผิวของตัวอย่างภายหลังจากการเผา (รูปที่ 5.12 ข) พบว่าพื้นผิวแตกต่างจากพื้นผิวของตัวอย่างก่อนที่จะนำไปเผาซึ่งพื้นผิวก่อนข้างเป็นเนื้อเดียวกัน (รูปที่ 5.12 ก) พื้นผิวของตัวอย่างในรูปที่ 5.12 ข ไม่เป็นเนื้อเดียวกันมีลักษณะของอนุภาคซิลิกาทรงกลมปนอยู่กับเจลที่มีโครงสร้างต่อเนื่องซึ่งน่าจะเป็นซิลิกาที่เกิดจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสและคอนเดนเซชันที่ไม่เซลล์และบนสายของเจลลาตินลักษณะของภาพที่ได้จากเทคนิค SEM คล้ายคลึงกับแบบจำลองอื่นที่ Atkinson และคณะ (1989) ได้เสนอไว้ดังแสดงในรูปที่ 5.12 ค ซึ่ง

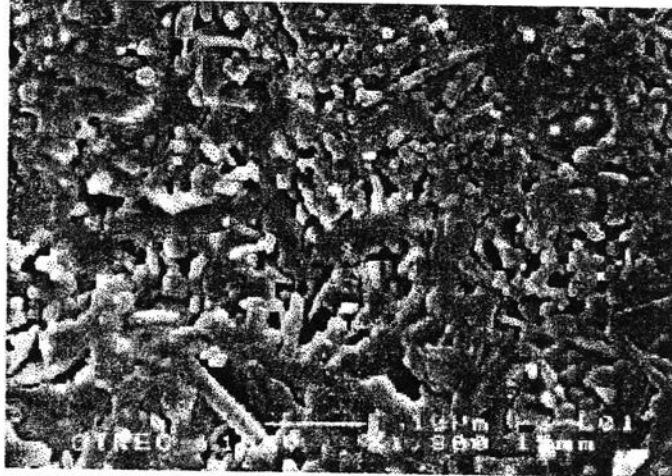
แสดงถึงโครงสร้างที่ประกอบด้วยหลอดของเจลลาตินที่อุดมไปด้วยน้ำในไมโครอิมัลชัน แรงยึดระหว่างซิลิกาและเจลลาตินเป็นพันธะโควาเลนต์ที่แข็งแรง (Watzke และ Dieschbourg, 1994) การเผาจะเป็นการไล่เอาเจลลาตินออกไปเพื่อดูโครงสร้างซิลิกาที่เหลือและงานวิจัยนี้ยังได้นำซิลิกาที่ได้จากการสังเคราะห์จากกระบวนการโซล-เจลของ TEOS ในไมโครอิมัลชันของ AOT/ สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์/ ไอโซออกเทน โดยที่ไม่มีเจลลาตินไปเผาเพื่อเปรียบเทียบกับซิลิกา-เจลลาตินนาโนคอมโพสิต จะเห็นว่าเมื่อไม่ได้เผา (รูปที่ 5.12 ง) วัสดุมีพื้นผิวที่เรียบและไม่มีความพรุน หลังจากการเผา (รูปที่ 5.12 จ) พื้นผิวของวัสดุมีลักษณะที่หยาบขึ้น นอกจากนี้ได้ทดลองนำเจลที่เตรียมได้จากเจลลาติน 14 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และเพิ่มเบส 0.7 มิลลิลิตร ทำให้ค่า τ เพิ่มขึ้นเป็น 6 ไปเผาด้วยเทคนิค TGA ที่อุณหภูมิ 700 องศาเซลเซียสพื้นผิวของตัวอย่างภายหลังจากการเผา (รูปที่ 5.13 ก และ ข) พบว่าพื้นผิวแตกต่างจากพื้นผิวของตัวอย่างก่อนที่จะนำไปเผาซึ่งพื้นผิวค่อนข้างเป็นเนื้อเดียวกัน (รูปที่ 5.11) พื้นผิวของตัวอย่างในรูปที่ 5.13 ก และ ข มีความพรุนที่สูงมาก ลักษณะคล้ายคลึงกับแบบจำลองของ Watzke และ Dieschbourg (1994) ในรูปที่ 5.13 ค แสดงโครงข่ายของวัสดุซิลิกา - เจลาตินนาโนคอมโพสิตที่ประกอบด้วยโครงข่ายของอนุภาคเล็ก ๆ ขนาดระดับนาโนเมตรระหว่างเจลลาติน - น้ำ (gelatin-water droplet network) ซึ่งเป็นบริเวณที่ TEOS เกิดปฏิกิริยากับอนุภาคของน้ำเป็นกรดซิลิก กรดซิลิกจะทำปฏิกิริยากอนเดนเซชันต่อมากลายเป็นโครงข่ายของวัสดุซิลิกา-เจลลาตินนาโนคอมโพสิต ปฏิกิริยาสามารถเกิดขึ้นได้ทั้งภายในอนุภาคเล็ก ๆ ของน้ำและบริเวณพื้นผิวระหว่างวัฏภาค ดังนั้นรูพรุนที่เกิดขึ้นจะเป็นส่วนของไอโซออกเทนที่ระเหยไปและส่วนของเจลลาตินที่ซึ่งถูกเผาไปด้วยอุณหภูมิที่สูง

อย่างไรก็ตามจะเห็นได้ว่าซิลิกา-เจลลาตินนาโนคอมโพสิตเสถียรตัวมากด้วยอุณหภูมิที่สูงกว่า 600 องศาเซลเซียสซึ่งน่าจะเกิดขึ้นเนื่องจากโครงสร้างของซิลิกาที่มีความเสถียร เมื่อเปรียบเทียบกับ MBGs ซึ่งจะหลอมเหลวที่อุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียสเท่านั้น

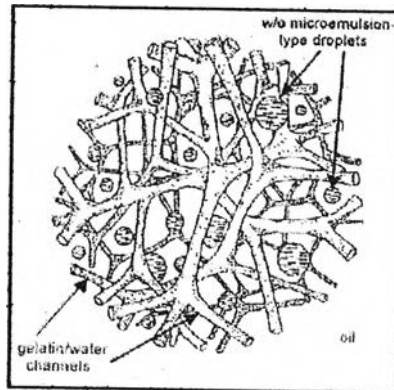
ก



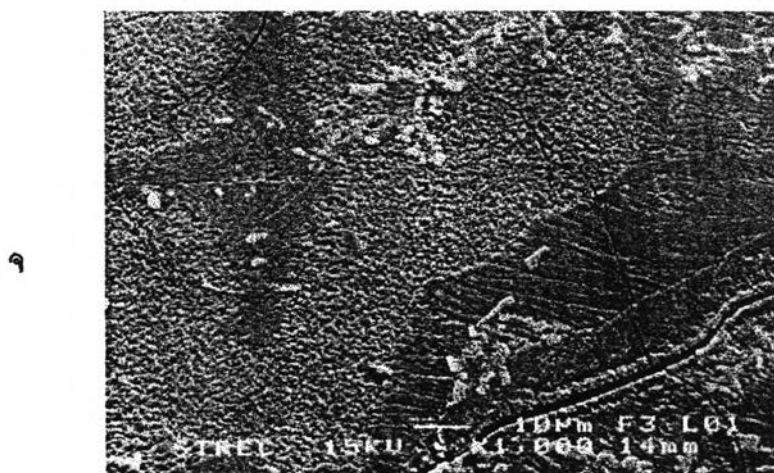
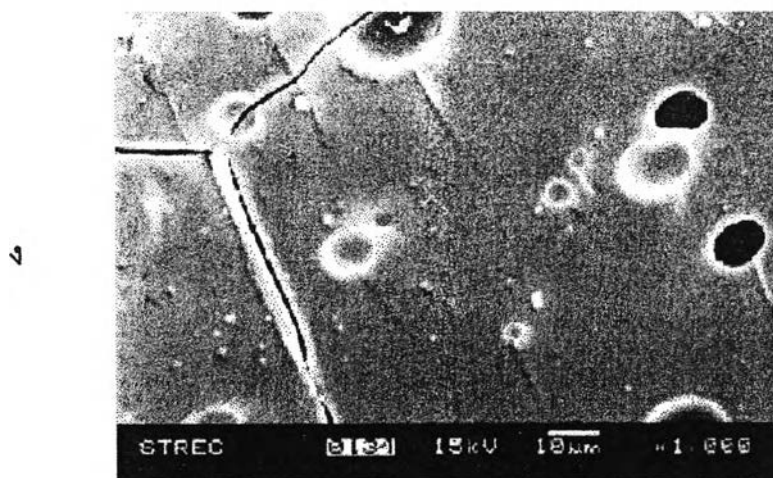
ข



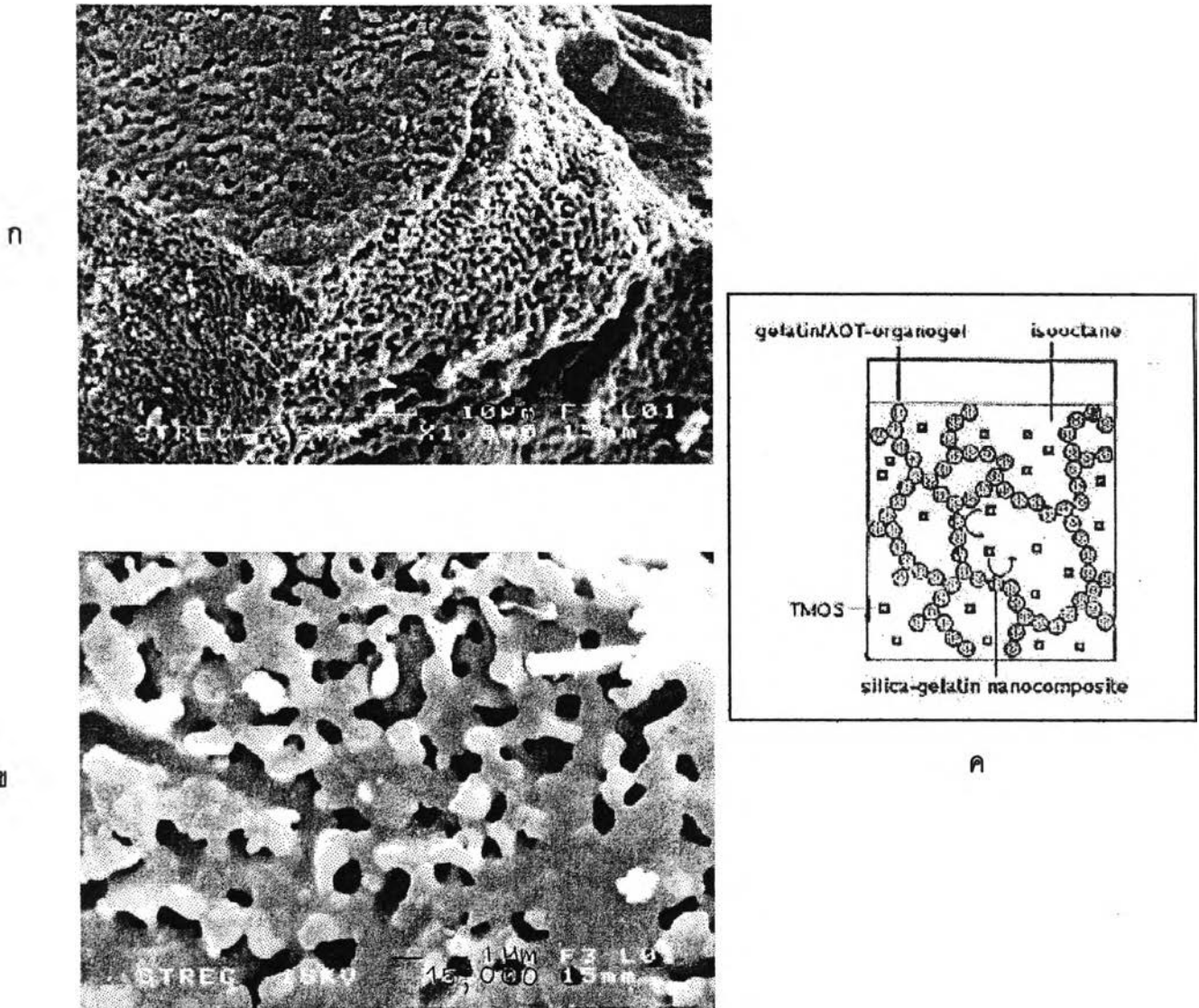
ค



รูปที่ 5.12



รูปที่ 5.12 พื้นผิวจากเทคนิค SEM ของวัสดุซิลิกา-เจลนาโนคอมโพสิต ระบบ AOT/ สารละลายกรด ไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์/ ไอโซออกเทน, เจลาติน 8 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ค่า $r = 4$ (ก) ปล่อยให้แห้งที่ อุณหภูมิห้อง (ข) นำไปเผาด้วยเทคนิค TGA ที่อุณหภูมิ 1200 องศาเซลเซียส ซิลิกาเจลที่ได้จากการ สังเคราะห์จากกระบวนการโซล-เจลของ TEOS ในไมโครอิมัลชัน (ค) แบบจำลองอื่น(จากรูปที่ 2.9, Atkinson และคณะ, 1989) (ง) ปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง (จ) นำไปเผาด้วยเทคนิค TGA ที่อุณหภูมิ 1200 องศาเซลเซียส



รูปที่ 5.13 พื้นผิวจากเทคนิค SEM ของวัสดุซิลิกา-เจลาตินนาโนคอมโพสิต ระบบ AOT/ สารละลายกรด ไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์/ ไอโซออกเทน, เจลาติน 14 %โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และเพิ่มสารละลายเบส แอมโมเนีย 30 %โดยปริมาตร ค่า $r = 6$ แสดงด้วยเทคนิค TGA ที่อุณหภูมิ 700 องศาเซลเซียส (ก) ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า (ข) ที่กำลังขยาย 10,000 เท่า (ค) แบบจำลองของวัสดุซิลิกา-เจลาตินนาโนคอมโพสิต จาก Watzke และ Dieschbourg (1994)

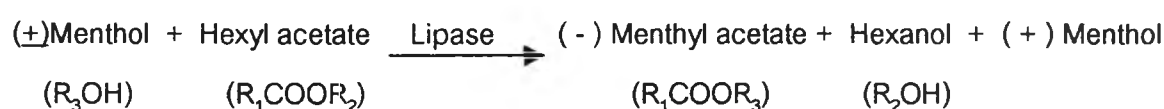
5.2 การศึกษาความเป็นไปได้ในการประยุกต์ใช้วัสดุประเภทซิลิกา-เจลาตินนาโนคอมโพสิต เพื่อเป็นพาหะสำหรับตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพ

5.2.1 ปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมในการตรึงรูป

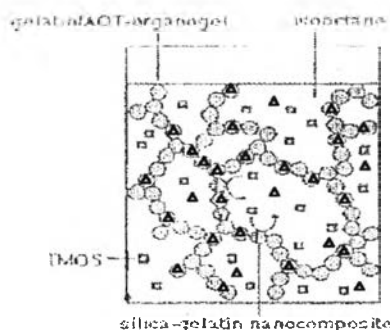
จากงานวิจัยของHearing และLuisi (1986) ไมโครอิมัลชันของระบบ AOT/ ไอโซออกเทน/ น้ำ ที่อัตราส่วนเชิงโมลของน้ำต่อAOT เท่ากับสามสิบพบว่าไมเซลล์มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 10 นาโนเมตร งานวิจัยนี้ทำภายในไมเซลล์เป็นบริเวณที่เจลาตินจะมาละลายอยู่ TEOSจะแพร่เข้ามาเพื่อเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส และยังเป็นที่อยู่ของเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida cylindracea* ซึ่งโดยทั่วไปเอนไซม์ไลเปสจะอาศัยพื้นที่ผิวในการดูดซับประมาณ 50 ตารางนาโนเมตรต่อไมเลกุล (Brockman และคณะ, 1973 และLombardo และคณะ, 1981) จึงพอจะประมาณว่าไมเลกุลไลเปสมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 8 นาโนเมตร ดังนั้นไมเลกุลไลเปสน่าที่จะสามารถบรรจุอยู่ในไมเซลล์ได้ จากการทดลองทำการตรึงเอนไซม์ลงในซิลิกา-เจลาตินนาโนคอมโพสิตตามวิธีในหัวข้อที่ 4.4.1 พบว่าเอนไซม์ไลเปสสามารถถูกละลายอยู่ในเมตริกซ์เจลที่สังเคราะห์ด้วยเจลาติน 8 9 และ 10 %โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เป็นปริมาณ 0.10 0.09 และ 0.08 กรัม/ปริมาตรทั้งหมดประมาณ 14 มิลลิลิตร ตามลำดับ จากการสังเกตด้วยตาเปล่าเจลที่ได้ยังคงมีลักษณะเป็นเนื้อเดียวแต่มีสีเหลืองของเอนไซม์ที่เข้มข้น ปริมาณเอนไซม์ที่ลดลงแสดงว่าที่ปริมาณเจลาตินมากขึ้นน้ำจะถูกใช้ไปในการ ไฮเดรชันเจลาตินเพิ่มขึ้นจึงทำให้มีน้ำเหลือสำหรับทำละลายเอนไซม์น้อยลง หากปริมาณเอนไซม์เพิ่มมากขึ้นกว่านี้จะทำให้เกิดกลุ่มอนุภาคของเอนไซม์เป็นของแข็งแขวนลอยอยู่ในเจลซึ่งจะทำให้เจลมีความขุ่นเพิ่มขึ้นและอาจจะทำให้การทำงานของเอนไซม์มีประสิทธิภาพลดลงได้เนื่องจากเกิดการเบียดบังกันเอง สำหรับงานวิจัยนี้เลือกใช้ปริมาณเจลาติน 8 %โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เนื่องจากสามารถทำละลายเอนไซม์ได้ในปริมาณมากและจากงานวิจัยของ Jenta และคณะ (1997) ได้แสดงความเข้มข้นของเจลาตินที่มีผลต่อการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ตามลักษณะทางกายภาพของ MBGs ที่เกิดขึ้น ดังกราฟที่แสดงอัตราการเกิดปฏิกิริยาเริ่มต้นของปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน(ระหว่างกรดเดคานอลิกและn-ออกทานอลได้ผลิตภัณฑ์เป็นออกทิลเดคานอเอท)ที่สัมพันธ์กับปริมาณเจลาตินซึ่งแสดงในรูปที่ 3.16 พบว่าที่ปริมาณเจลาตินต่ำกว่า 7%โดยน้ำหนักต่อปริมาตร แอคทิวิตี้จะสูงมากเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้เจลาตินความเข้มข้นสูง (ตั้งแต่ 8-14 %โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) แต่ปริมาณเจลาตินที่สูงจะทำให้เจลที่ได้มีความเสถียร แข็งและสามารถรักษาโครงสร้างไว้ได้ในสารละลายของปฏิกิริยา(reaction medium)

5.2.2 การทดสอบความสามารถในการทำงานของเอนไซม์และความเสถียรของเอนไซม์ต่อการเก็บรักษา (storage stability)

ปฏิกิริยาที่ทำการศึกษาในหัวข้อนี้คือปฏิกิริยาทรานเอสเทอร์ริฟิเคชัน (transesterification reaction) ของเรซิมีกเมนทอล (\pm Menthol) กับเฮกซิลอะซิเตต (Hexyl acetate) โดยใช้เอนไซม์ไลเปสจาก *Candida cylindracea* เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทางชีวภาพตั้งรูปแบบวัสดุซิลิกา-เจลาตินนาโนคอมโพสิตและใช้ไอโซออกเทนเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ผลิตภัณฑ์ที่ได้คือ(-)เมนทิลอะซิเตต ((-)-Menthyl acetate) และเฮกซานอล (Hexanol) เป็นผลิตภัณฑ์พลอยได้ ส่วน (+)เมนทอลเป็นส่วนที่ไม่ถูกทำปฏิกิริยา ซึ่งผลการเคมีแสดงได้ดังนี้



จากการตั้งรูปเอนไซม์ไว้ใน MBGs เอนไซม์จะถูกตรึงอยู่ในส่วนของน้ำที่ละลายอยู่ภายในไมโครอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมันและถูกทำให้แข็งตัวด้วยโครงร่างตาข่ายของเจลาติน ซึ่งเอนไซม์จะถูกกระจายตัวได้มากถึงในระดับไมเลกุล (Jenta และคณะ, 1997) สำหรับซิลิกา-เจลาตินนาโนคอมโพสิตจากแบบจำลองของ Watzke และDieschbourg (1994) งานวิจัยนี้คาดว่าเอนไซม์จะถูกละลายอยู่ในส่วนของไมเซลล์ได้ในระดับไมเลกุลเช่นเดียวกันและมีเพียงบางส่วนเท่านั้นที่อยู่ในส่วนของตัวทำละลายอินทรีย์เนื่องจากระบบเมื่อเริ่มต้นใส่เอนไซม์จะมีลักษณะขุ่นหลังจากถูกปั่นกวนด้วยเครื่องกวนแบบแม่เหล็กเอนไซม์จะถูกละลายทำให้ระบบมีลักษณะใส ดังแสดงในรูปที่ 5.14 ภายหลังจากที่เจลาตินเอนไซม์จะถูกขังอยู่ในเมตริกซ์ของซิลิกา-เจลาตินนาโนคอมโพสิตทำให้เอนไซม์มีความเสถียรมากขึ้นเนื่องจากจะทำให้เสียโครงรูป 3 มิติได้ยากขึ้น

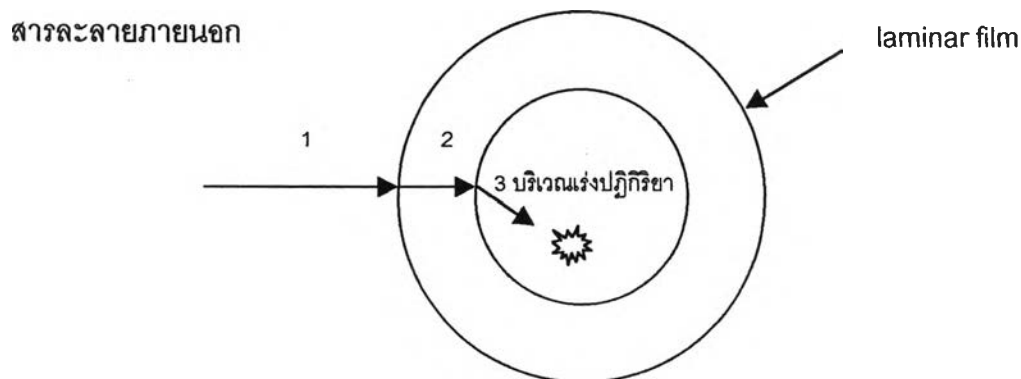


รูปที่ 5.14 แบบจำลองซิลิกา-เจลาตินนาโนคอมโพสิตของ Watzke และDieschbourg (1994) ซึ่งงานวิจัยนี้คาดว่าเอนไซม์ (Δ) จะถูกตรึงอยู่ที่นาโนเจลซึ่งอุดมไปด้วยน้ำและเป็นบริเวณที่ TMOS เกิด

ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส และเอนไซม์ (A) บางส่วนอยู่ในไอโซออกเทนหลังจากที่เจลแห้งจะหดตัวทำให้เอนไซม์ถูกขังอยู่ภายในเมตริกซ์ของซิลิกา-เจลาตินนาโนคอมโพสิต

ก่อนที่จะนำไปใช้งานจะนำเจลที่ยังไม่แห้งสนิทไปทำให้มีขนาดเล็ก ๆ แล้วนำไปร่อนด้วยตะแกรงร่อน (sieve) ขนาด 10 เมช (mesh)(เส้นผ่านศูนย์กลาง 2 mm.) เมื่อแห้งดีแล้วจึงนำไปใช้ในการเร่งปฏิกิริยา

โดยทั่วไปเอนไซม์ที่รูปร่างมักจะมีปัญหาความต้านทานอันเนื่องมาจากวัสดุพวยงต่อการถ่ายเทมวลสาร (mass transfer resistance) ของสารตั้งต้นและผลิตภัณฑ์ซึ่งสามารถแสดงได้ดังรูปที่ 5.15 สมมติว่าเอนไซม์ที่รูปร่างมีลักษณะเป็นทรงกลม การเคลื่อนที่ของสารตั้งต้นเพื่อเข้าทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ต้องผ่านชั้นความต้านทานจากการถ่ายเทมวลสารซึ่งความต้านทานนี้จะไม่เกิดขึ้นในเอนไซม์อิสระ การเคลื่อนที่ของสารตั้งต้นเพื่อเข้าทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ที่รูปร่างสามารถแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน (James, M.L., 1992) คือ (1) สารตั้งต้นจะเคลื่อนที่จากสารละลายภายนอกไปยังผิวของตัวพวยง (2) สารตั้งต้นจะแพร่ผ่านชั้นฟิล์มบาง ๆ ที่อยู่เนือง (laminar film) ที่ผิวของตัวพวยง และ(3) สารตั้งต้นจะแพร่ผ่านเข้าไปในรูพวยงของตัวพวยงเพื่อเข้าทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ในตัวพวยง



รูปที่ 5.15 เส้นทางการเคลื่อนที่ของสารตั้งต้นเพื่อเข้าทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ที่รูปร่าง

จากการเคลื่อนที่ของสารตั้งต้นดังกล่าวทำให้ความต้านทานการถ่ายเทมวลสารแบ่งออกเป็น 2 แบบ คือ (1) ความต้านทานการถ่ายเทมวลสารภายนอกซึ่งเป็นผลมาจากสารตั้งต้นแพร่ผ่านชั้นฟิล์มที่ผิวของตัวพวยง และเข้าทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ที่ผิวของตัวพวยง (2) ความต้านทานการถ่ายเทมวลสารภายในซึ่งเป็นผลมาจากการที่สารตั้งต้นเคลื่อนที่เข้าไปในรูพวยงของตัวพวยง และเข้าทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ภายในรูพวยง

การทดสอบความสามารถในการทำงานของเอนไซม์

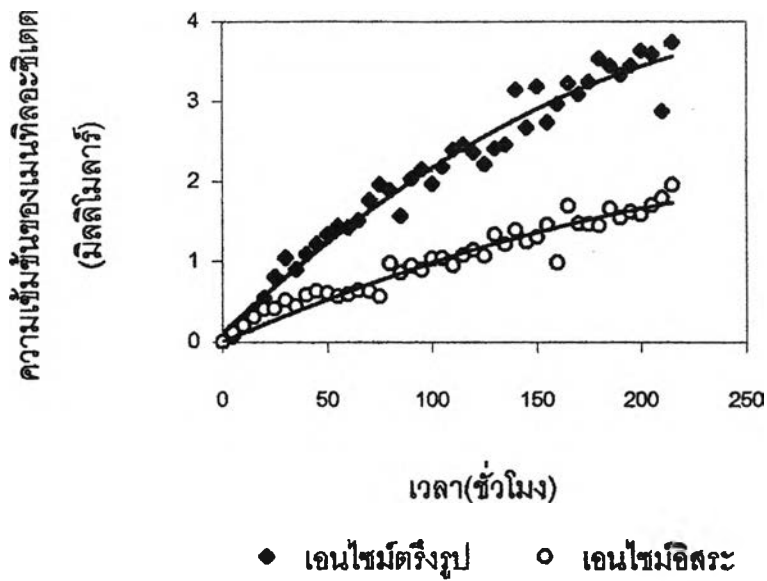
ทำตามวิธีในหัวข้อ 4.4.2 (ใช้เรซิมิกเมนทอลที่มีความเข้มข้น 73 มิลลิโมลาร์ และเฮกซิลอะซิเตตที่มีความเข้มข้น 360 มิลลิโมลาร์ ในไอโซออกเทน 90 มิลลิลิตร และเอนไซม์ 0.3 กรัมตริงรูปในระบบเจลาติน 8 %โดยน้ำหนักต่อปริมาตรทำให้เจลยังคงมีความเป็นเนื้อเดียว) โดยการเปรียบเทียบความเข้มข้นของเมนทิลอะซิเตตซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาทรานเอสเทอร์ฟิเคชัน โดยการเก็บตัวอย่างทุก ๆ 5 ชั่วโมง (รูปที่ 5.16) จากการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์อิสระซึ่งอัตราการเกิดปฏิกิริยาเริ่มต้น(initial rate ที่ 25 ชั่วโมงแรก) ของเอนไซม์ตริงรูปเป็น $100 \mu\text{mol/ l-hr-g enz.}$ (ในวัสดุตริงขนาด 10 เมช) และเอนไซม์อิสระเป็น $66 \mu\text{mol/ l-hr-g enz.}$ และอัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ตริงรูปที่สูงกว่าเอนไซม์อิสระในทำนองเดียวกับงานวิจัยของ Reetz และคณะ(1994-1996) ที่ได้ตริงเอนไซม์ไลเปสไว้ในวัสดุโซล-เจลที่ไม่ชอบน้ำ พวกเขาพบว่าแอกทิวิตี้ของเอนไซม์ไลเปสตริงรูปเพิ่มขึ้นถึง 5 เท่าของไลเปสที่ไม่ถูกตริงซึ่งเป็นผลมาจากการกระจายตัวของโมเลกุลไลเปสได้ดีในเมตริกซ์เจล และงานวิจัยนี้ยังได้ทดลองเร่งปฏิกิริยาทรานเอสเทอร์ฟิเคชันด้วยเอนไซม์ไลเปสตริงรูปในซิลิกา-เจลาตินนาโนคอมโพสิตที่มีขนาดประมาณ 18 เมช (เส้นผ่านศูนย์กลาง $1000 \mu\text{m}$) พบว่าอัตราการเกิดปฏิกิริยาเริ่มต้นสูงถึง $173 \mu\text{mol/ l-hr-g enz.}$ แสดงว่าขั้นตอนการถ่ายเทมวลสารเป็นขั้นตอนที่กำหนดอัตราเร็วของปฏิกิริยาซึ่งสามารถอธิบายโดยอาศัยการวิเคราะห์การแพร่และปฏิกิริยาเคมีภายในตัวพวยง (Bailey และOllis, 1986) จากการทำสมดุลย์มวลสารจะได้สมการที่ 5.1 โดยสมมติว่าปฏิกิริยาเป็นอันดับศูนย์ k_0 จะเท่ากับอัตราการเกิดปฏิกิริยาที่มากที่สุด D_{es} แทนสัมประสิทธิ์การแพร่ (effective diffusion coefficient) ตัวพวยงเป็นทรงกลมมีรัศมี R ความเข้มข้นของสารตั้งต้นที่พื้นผิวของตัวพวยงมีค่า S_0 ที่ระยะวิกฤตจากจุดศูนย์กลางของตัวพวยงเท่ากับ R_c เป็นระยะทางที่ไกลที่สุดที่สารตั้งต้นจากภายนอกจะสามารถแพร่เข้ามาได้ซึ่งกำหนดให้มีความเข้มข้นของสารตั้งต้นเป็นศูนย์

$$R_c = [R^2 - (6D_{es}S_0/k_0)]^{1/2} \quad (5.1)$$

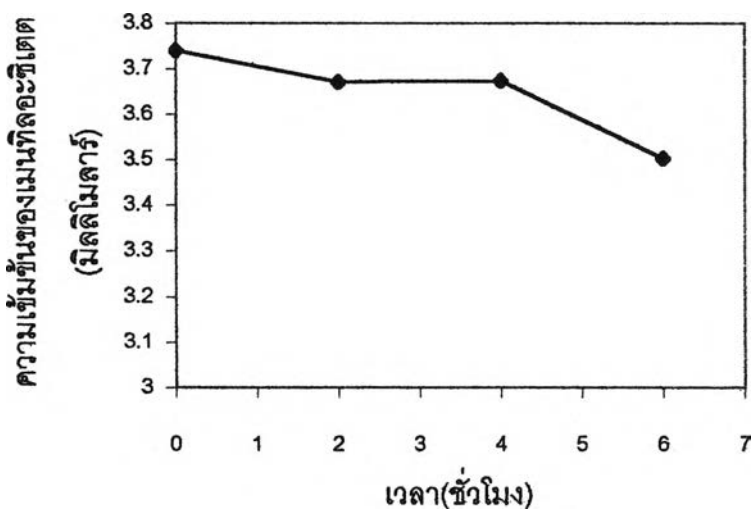
จากสมการที่ 5.1 จะเห็นได้ว่าเมื่อขนาดหรือรัศมีของตัวพวยงเพิ่มขึ้นจะทำให้ R_c เพิ่มขึ้นด้วยดังนั้นบริเวณที่ไม่เกิดปฏิกิริยาภายในตัวพวยงจะเพิ่มมากขึ้นทำให้พบว่าอัตราการเกิดปฏิกิริยาจำเพาะในอนุภาคซิลิกา-เจลาตินนาโนคอมโพสิตที่มีขนาดเล็กกว่าจะมีค่าสูงกว่าในกรณีที่มีอนุภาคมีขนาดใหญ่ นอกจากนี้ซิลิกา-เจลาตินนาโนคอมโพสิตที่ใช้เป็นตัวพวยงในงานวิจัยนี้ยังมีลักษณะของออร์แกนเจลที่เด่นซึ่ง Rees และคณะ (1995) ได้ศึกษาการเร่งปฏิกิริยาของไลเปสตริงรูปในระบบ MBGs พบว่ากระบวนการแพร่ของสารตั้งต้นและผลิตภัณฑ์ที่สามารถละลายได้ในน้ำมันสามารถเกิดขึ้นผ่านบริเวณวิญภาคน้ำมันและซึมผ่านตัวเมตริกซ์เจลเองได้อย่างง่าย ๆ ในปี 1997 พวกเขาได้ทดลองเร่งปฏิกิริยา

เอสเทอร์ฟิเคชันด้วยเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปใน MBGs ที่เตรียมจาก 2 วิธีคือ วิธีการหั่นเจลให้มีขนาดเท่า ๆ กันเป็นชิ้นเล็ก ๆ และวิธีการตำเจลให้ละเอียดมากถึงประมาณ 500 μm (35 เมช) จากผลการทดลองที่พบว่าขั้นตอนการถ่ายเทมวลสารเป็นขั้นตอนกำหนดอัตราเร็วของปฏิกิริยาเช่นเดียวกับที่พบในกรณีของ MBGs แสดงให้เห็นว่าซิลิกา-เจลาตินนาโนคอมโพสิตที่สังเคราะห์ขึ้นมีลักษณะทางกายภาพในแง่ของความพรุนและพื้นที่การถ่ายเทมวลสารใกล้เคียงกับ MBGs ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดสอบพื้นผิวของวัสดุด้วยเทคนิค SEM และ BET ซึ่งพบว่าวัสดุที่ได้มีความพรุนและพื้นที่ผิวต่อน้ำหนักต่ำ (ดูหัวข้อที่ 5.1.3) ทั้งนี้เนื่องจากอิทธิพลของเจลาตินที่มีอยู่มากในระบบทำให้โครงข่ายของออร์แกนเจลครอบคลุมอยู่เต็มพื้นที่ บดบังโครงสร้างที่แท้จริงของซิลิกา-เจลาตินนาโนคอมโพสิตซึ่ง Watzke และคณะ (1994) พบว่ามีคุณสมบัติทางด้านความพรุนสูง (ดูรูปที่ 5.13 ประกอบ) แต่อย่างไรก็ตามในปัจจุบันนี้ยังไม่มีรายงานของนักวิจัยท่านอื่นถึงการทดสอบแอกทิวิตีของเอนไซม์ซึ่งถูกตรึงในวัสดุซิลิกา-เจลาตินนาโนคอมโพสิตเช่นเดียวกับในงานวิจัยนี้ งานวิจัยนี้จึงไม่มีข้อมูลที่จะสามารถนำมาเปรียบเทียบได้แน่ชัดนัก

หลังจากการใช้เอนไซม์ตรึงรูปในการเร่งปฏิกิริยาทรานเอสเทอร์ฟิเคชัน แยกเอาเอนไซม์ตรึงรูปออกจากสารละลายของปฏิกิริยาแล้วยังคงเดินเครื่องปฏิกรณ์แบบถังกวน ทุก 2 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างนำมาวิเคราะห์ความเข้มข้นของเมนทิลอะซิเตตดังแสดงในรูปที่ 5.17 จะเห็นได้ว่าไม่มีการเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นของเมนทิลอะซิเตตซึ่งแสดงว่าเอนไซม์ไม่ได้หลุดออกจากตัวพุงหรืออาจจะหลุดไปในปริมาณที่น้อยมาก ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Jenta และคณะ (1997) ภายหลังจากการใช้ไลเปสตรึงรูปใน MBGs ในการสังเคราะห์ออกทิลเดคานอเอท นำเจลมาล้างด้วยการแช่ในเฮปเทนนาน 6 ชั่วโมง ก่อนที่จะใช้ซ้ำพบว่าไม่มีการชะเอาไลเปสปนออกมาเนื่องจากไม่พบแอกทิวิตีในเฮปเทนที่ล้าง



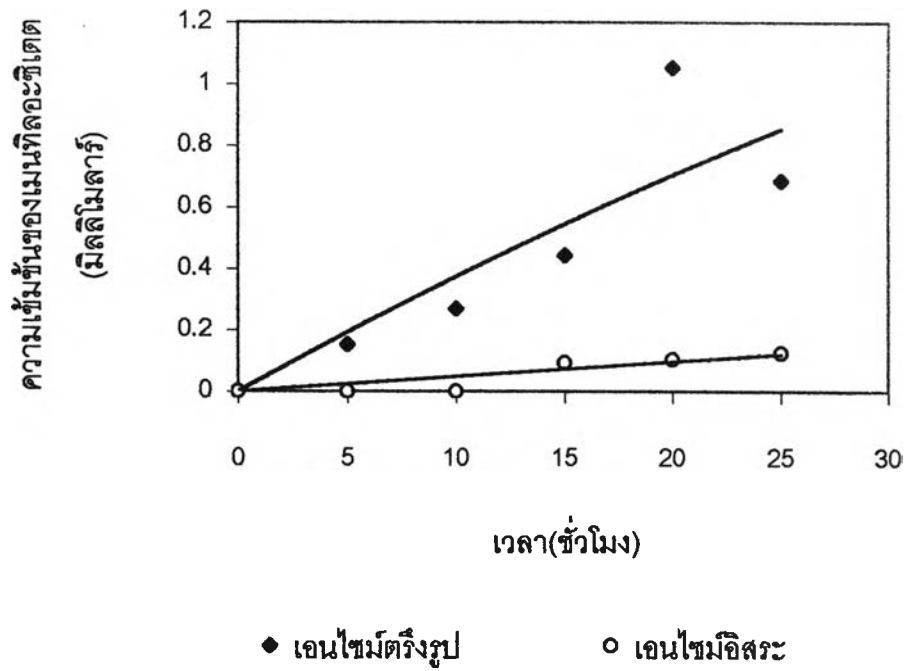
รูปที่ 5.16 การเปรียบเทียบความเข้มข้นของเมนทิลอะซีเตตที่เกิดขึ้นระหว่างเอนไซม์ทรงรูปและเอนไซม์อิสระเมื่อเวลาผ่านไป



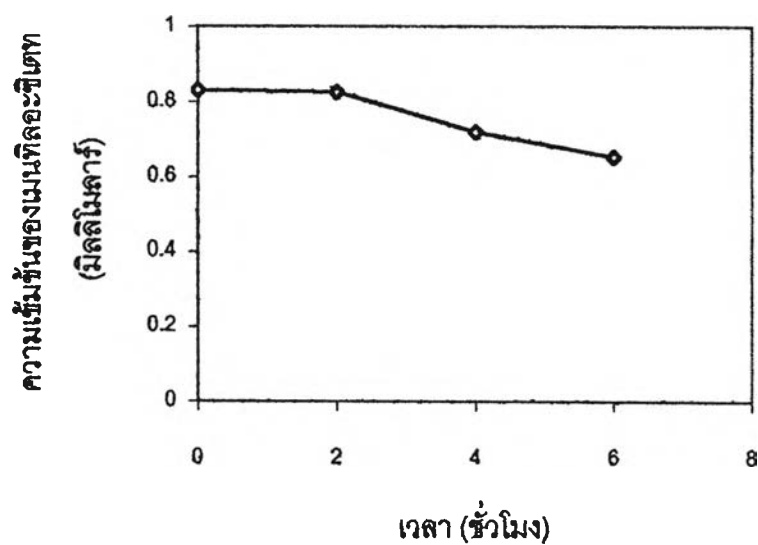
รูปที่ 5.17 ผลการทำปฏิกิริยาของสารตัวอย่างในเครื่องปฏิกรณ์แบบถังกวนเพื่อทดสอบความสามารถในการกักเก็บเอนไซม์

การทดสอบความเสถียรของเอนไซม์ต่อการเก็บรักษา (storage stability)

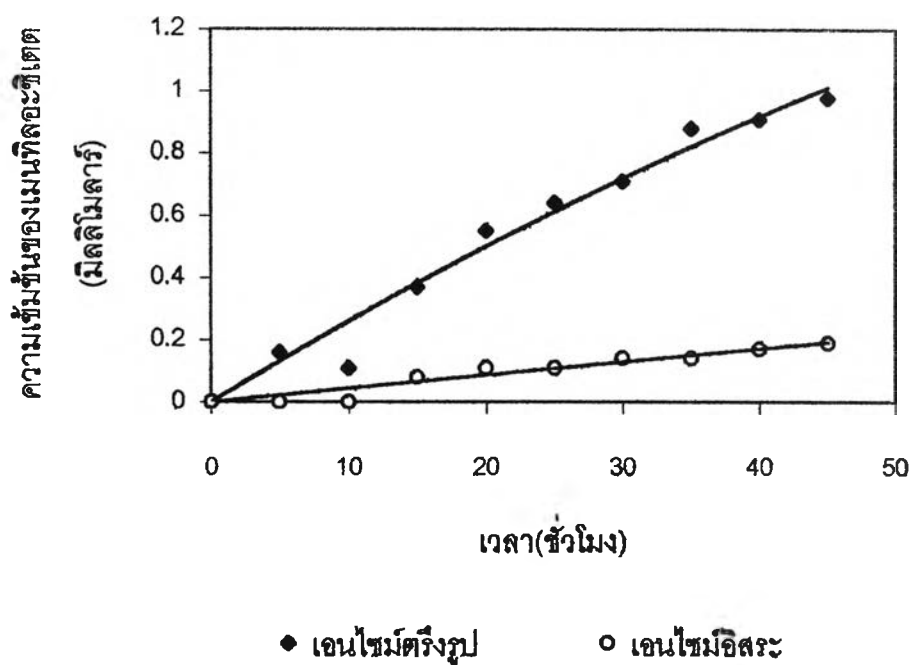
โดยการตรวจสอบความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ตามวิธีในหัวข้อ 4.4.3 (ใช้เรซิมิกเมนทอลที่มีความเข้มข้น 73 มิลลิโมลาร์ และเฮกซิลอะซิเตตที่มีความเข้มข้น 360 มิลลิโมลาร์ ในไอโซออกเทน 50 มิลลิลิตรและเอนไซม์ 0.15 กรัมตริงรูปในระบบเจลาติน 8 %โดยน้ำหนักต่อปริมาตรทำให้เจลาตินยังคงมีความเป็นเนื้อเดียว) ภายหลังจากการวางเอนไซม์ตริงรูปและเอนไซม์อิสระไว้ในบรรยากาศที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 และ 35 วัน พบว่าเอนไซม์อิสระมีแอกทิวิตีต่ำกว่าเอนไซม์ตริงรูปมากเช่นเดียวกับการทดสอบความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ (ที่ 0 วัน) ดังแสดงในรูปที่ 5.18 และ 5.20 อัตราการเกิดปฏิกิริยาเบื้องต้น (initial rate) แสดงในตารางที่ 5.6 และรูปที่ 5.22 การที่เอนไซม์ตริงรูปมีแอกทิวิตีสูงกว่าเอนไซม์อิสระภายหลังการเก็บไว้ภายในระยะเวลาที่กำหนดแสดงว่าเอนไซม์ตริงรูปมีความเสถียรต่อการเก็บรักษามากกว่าเอนไซม์อิสระน่าจะเป็นเพราะว่าเอนไซม์ที่ถูกตรึงอยู่ในส่วนของไมเซลล์ซึ่งยังคงมีน้ำห่อหุ้มเอนไซม์ไว้ (essential water bound to the enzyme) เป็นเสมือนการเลียนแบบธรรมชาติของเอนไซม์ที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ทำให้สิ่งแวดล้อมของเอนไซม์เหมาะสมต่อการใช้งานและสามารถรักษาสสมบัติในการเร่งปฏิกิริยาได้นาน (Martinek และคณะ, 1981, 1982 และ Pileni และคณะ, 1985, Jenta และคณะ, 1997) นอกจากนี้งานวิจัยนี้คาดว่าเมตริกซ์ของซิลิกา-เจลาตินจะสามารถป้องกันการเปลี่ยนโครงสร้าง 3 มิติของเอนไซม์เนื่องจากอุณหภูมิหรือพลังงานภายนอกที่มากกระทำต่อเอนไซม์ภายหลังจากการวางทิ้งไว้ในบรรยากาศ ด้วยเหตุที่อุณหภูมิหรือพลังงานภายนอกอาจไปทำลายพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่อะมิโนของเอนไซม์ทำให้เอนไซม์ยึดตัวออกหรือมีโครงสร้าง 3 มิติที่เปลี่ยนแปลงไปได้ดังนั้นเมื่อวางเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตริงรูปไว้ในบรรยากาศที่เวลานานขึ้นก็จะทำให้แอกทิวิตีของเอนไซม์ลดลงซึ่งแอกทิวิตีของเอนไซม์ตริงรูปก็น่าจะลดลงในอัตราที่ต่ำกว่าการลดลงของเอนไซม์อิสระ แต่จากผลการทดลองที่ได้ (ตารางที่ 5.6) เป็นที่น่าแปลกใจว่าเอนไซม์ตริงรูปกลับมีแอกทิวิตีที่เพิ่มขึ้นภายหลังการเก็บซึ่งหากต้องการคำอธิบายที่แน่ชัดจะต้องมีการศึกษาวิจัยเพิ่มเติม



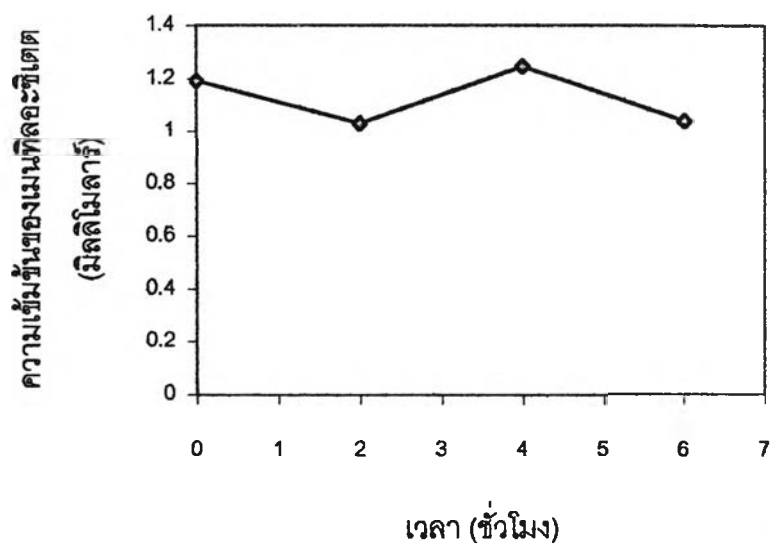
รูปที่ 5.18 ผลการเร่งปฏิกิริยาของเอนไฮมัตริงรูปและเอนไฮมอัสระภายหลังวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง 15 วัน



รูปที่ 5.19 ผลการทำปฏิกิริยาของสารตัวอย่างในเครื่องปฏิกรณ์แบบถังกวนเพื่อทดสอบความสามารถในการกักเก็บเอนไซม์ของเอนไซม์ตรึงรูปภายหลังจากวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง 15 วัน



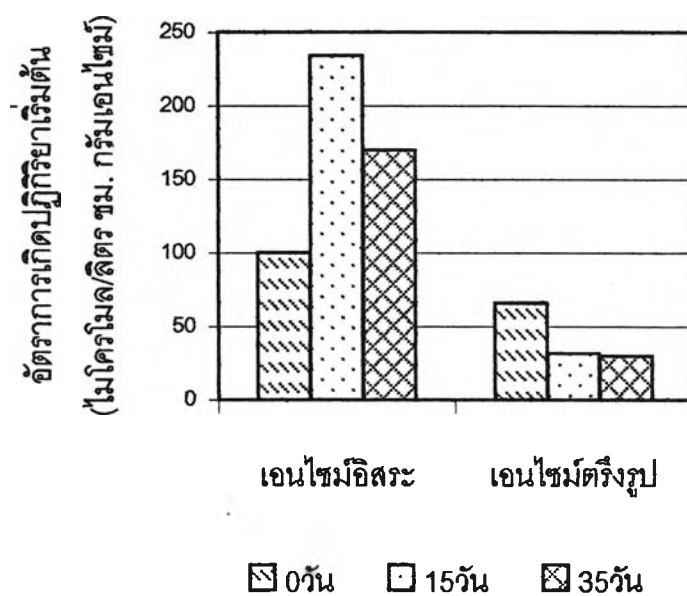
รูปที่ 5.20 ผลการเร่งปฏิกิริยาของเอนไฮมัตริงรูปและเอนไฮมอัสระภายหลังจากวางไว้ในอุณหภูมิห้อง 35 วัน



รูปที่ 5.21 ผลการทำปฏิกิริยาของสารตัวอย่างในเครื่องปฏิกรณ์แบบตั้งถวนเพื่อทดสอบความสามารถในการกักเก็บเอนไซม์ตริงรูปภายหลังจากวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง 35 วัน

ตารางที่ 5.6 อัตราการเกิดปฏิกิริยาเบื้องต้น(initial rate)ในหน่วยไมโครโมล/ลิตร ชม. กรัม-
เอนไซม์ ของปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชัน

เวลาในการเก็บ	เอนไซม์ตริงรูป	เอนไซม์อิสระ
0 วัน	100	66
ภายหลัง 15 วัน	234	32
ภายหลัง 30 วัน	170	30



รูปที่ 5.22 เปรียบเทียบอัตราการเกิดปฏิกิริยาเริ่มต้นของเอนไซม์ตริงรูปและเอนไซม์อิสระภายหลัง
การเก็บไว้ที่ 0, 15 และ 35 วัน