โครงการ

การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ การดูดซับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยซิลิกา และการนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพไปใช้ประโยชน์เป็นสารต้นแบบในการสังเคราะห์ซิลิกา

Adsorption of Biosurfactant by Silica and Utilization of Biosurfactant as Template for Silica Synthesis

ชื่อนิสิต นายภูริต สงวนศักดิ์

ภาควิชา เคมี

ปีการศึกษา 2558

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การดูดซับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยซิลิกาและการนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพไปใช้ประโยชน์เป็นสารต้นแบบในการสังเคราะห์ซิลิกา

Adsorption of Biosurfactant by Silica and Utilization of Biosurfactant as Template for Silica Synthesis

โดย
นายภูริต สงวนศักดิ์

รายงานเล่มนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2558

เรื่อง การดูดซับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยซิลิกาและการนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพไปใช้ประโยชน์เป็นสารต้นแบบในการสังเคราะห์ซิลิกา

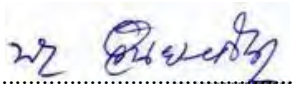
โดย นาย ภูริต สงวนศักดิ์

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการตรวจสอบโครงการ

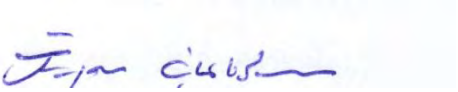


..... ประธานกรรมการ

(อาจารย์ ดร. นวพร วินยเวคิน)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อมราวรรณ อินทศิริ)



..... กรรมการ

(อาจารย์ ดร. จัญจุดา อุ่นเรืองศรี)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร. วุฒิชัย พาราสุข)

หัวหน้าภาควิชาเคมี

วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

คุณภาพของการเขียนรายงานเล่มนี้อยู่ในระดับ ☑ ดีมาก ☐ ดี ☐ พอใช้

ชื่อโครงการ การดูดซับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยซิลิกาและการนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพไปใช้ประโยชน์เป็นสารต้นแบบในการสังเคราะห์ซิลิกา
ชื่อนิสิตผู้ในโครงการ นาย ภูริต สงวนศักดิ์ เลขประจำตัว 5533066823
ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ผศ. ดร. อมราวรรณ อินทศิริ
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2558

บทคัดย่อ

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดลิโพเพปไทด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียตระกูล *Bacillus sp.* ได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก เนื่องจากมีความสามารถในการลดแรงตึงผิวสูงและต้านทานต่อเชื้อจุลินท รีย์ทำให้คง ประสิทธิภาพไว้ได้นาน อย่างไรก็ตาม วิธีการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยตัวทำละลายที่ใช้ในปัจจุบันยังมีค่าใช้จ่ายที่สูง อีกทั้งยังไม่สามารถสกัดได้อย่างต่อเนื่อง ด้วยเหตุนี้ วิธีการใหม่ในการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยกระบวนการดูดซับและคายออกโดยการใช้ซิลิกาจึงได้ถูกนำมาศึกษา โดยการศึกษานี้เกี่ยวกับการสังเคราะห์ซิลิกา โดยใช้สารตั้งต้น 2 ชนิด ได้แก่ สารตั้งต้นเดียว (i.e. tetraethoxysilane, TEOS) หรือสารตั้งต้นผสม (i.e. TEOS และ (3-aminopropyl)trietoxysilane, APTES) ใช้สารลดแรงตึงผิว 2 ชนิด ได้แก่ Cetyltrimethyl ammonium bromide (CTAB) และ Sodium dodecylsulfate (SDS) เป็นสารต้นแบบ ซิลิกาที่สังเคราะห์ได้ทุกชนิดถูกนำไปเผาที่อุณหภูมิสูง จากนั้นวัสดุทุกชนิดจึงถูกนำไปศึกษาสมบัติทางกายภาพ และสมบัติในการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ พบว่าซิลิกาที่ผ่านการเผาที่อุณหภูมิสูงซึ่งสั งเคราะห์โดยใช้ TEOS เป็นสารตั้งต้น และ CTAB เป็นสารต้นแบบ แสดงสมบัติในการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสูงที่สุด อันเนื่องมาจากโครงสร้างที่เป็นระเบียบและพื้นที่ผิวจำเพาะที่สูงของมัน นอกจากนั้นการสังเคราะห์ซิลิกาสามารถทำได้สำเร็จด้วยเช่นกัน โดยใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตขึ้นเองเป็นสารต้นแบบ

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำสำคัญ: ซิลิกา, สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, การสกัดด้วยเฟสของแข็ง

Title Adsorption of Biosurfactant by Silica and Utilization of Biosurfactant as Template for Silica Synthesis

Student name Phurit Sa-nguansak ID 5533066823

Adviser name Assist. Professor Dr. Amarawan Intasiri

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic year 2015

Abstract

Lipopepeptide biosurfactants produced by *Bacillus sp.* have gained interest due to their high surface activities and antimicrobial potential that make them effective. However, the recent solvent extraction method which is used for extracting biosurfactant still has high cost and cannot extract the biosurfactant continuously. Hence, a novel method for biosurfactant extraction, which comprises of adsorption-desorption process using silica, was investigated. This study is about the synthesis of silica using 2 types of precursors which are a single precursor (i.e. tetraethoxysilane, TEOS) and a duo precursor (i.e. TEOS and (3-aminopropyl)triethoxysilane, APTES). The two types of surfactant which were Cetyltrimethyl ammonium bromide (CTAB) and Sodium dodecylsulfate (SDS) were used as template. All as-synthesized silicas were also calcined at high temperature to provide the corresponding calcined silicas. Their physical properties and biosurfactant extraction property were then examined. It was found that the calcined silica synthesized using TEOS as precursor and CTAB as template exhibited the maximum biosurfactant extraction property due to its crystalline structure and high specific surface area. In addition, the synthesis of silica was also achieved using an in-house biosurfactant as a template.

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Keywords: Silica, Biosurfactant, Solid phase extraction

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อมราวรรณ อินทศิริ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือแก่ผู้วิจัยเป็นอย่างดีตลอดการวิจัย รวมทั้งให้ความรู้ ความเอาใจใส่ คำแนะนำและคำปรึกษาตลอดจนให้มุมมองที่ดีต่าง ๆ ในการทำวิจัยรวมถึงการเขียนรายงานฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร . เอกวัล ลือพร้อมชัย ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่เปรียบเสมือนอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการร่วม ให้ความกรุณาชี้แนะแนวทางการวิจัยแก่ผู้วิจัย จนงานวิจัยลุล่วงไปด้วยดี

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณอาจารย์ ดร. นวพร วินยเวคิน และอาจารย์ ดร. จัญจุดา อุ่นเรืองศรี ที่ให้ความสนใจและเป็นเกียรติมาเป็นกรรมการการสอบในครั้งนี้ อีกทั้งยังเสียสละเวลาอันมีค่าในการตรวจทาน แก้ไขและให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์สำหรับการปรับปรุงรายงายฉบับนี้

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร . วราวุฒิ ตั้งพสุธาดล ภาควิชาเคมี คณะวิ ทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่เอื้อเฟื้อมอบ SDS สำหรับใช้ในการศึกษาในงานวิจัยนี้ และขอขอบพระคุณอาจารย์ ดร.นำพล อินสิน ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่เอื้อเฟื้อมอบ KBr และเครื่อง rotary evaporator สำหรับใช้ในการศึกษาในงานวิจัยนี้

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ดร. ณิชากร ค อนดี นักวิจัย ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความช่วยเหลือและคำปรึกษาแก่ผู้วิจัยตลอดการวิจัย

เหนือสิ่งอื่นใดขอกราบขอบพระคุณอย่างสูงต่อบิดา มารดาของผู้วิจัย และขอขอบคุณเพื่อน ๆ ภาควิชาเคมี รุ่นที่ 81 ทุก ๆ คน ที่ได้มอบห่วงใยและกำลังใจที่ดีเสมอมาโดยไม่หวังผลตอบแทน ทำให้ผู้วิจัยสามารถผ่านพ้นอุปสรรคต่าง ๆ มาได้ด้วยดีจนเสร็จสิ้นการวิจัย

โครงการนี้ได้รั บเงินสนับสนุนจากโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมสร้างประสบการณ์ของคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประจำปีการศึกษา 2558 ซึ่งช่วยให้โครงการนี้ดำเนินการได้ด้วยดี ผู้วิจัยขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญตาราง	ซ
สารบัญรูป	ญ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	ฏ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ	2
1.3 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	2
1.3.1 สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	2
1.3.1.1 สารลดแรงตึงผิว	2
1.3.1.2 สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	5
1.3.2 การสกัดด้วยเฟสของแข็ง (solid phase extraction, SPE)	6
1.3.2.1 กลไกการทำงานของเทคนิคการสกัดด้วยเฟสของแข็ง	6
1.3.2.2 การสกัดด้วยเฟสของแข็งเชิงปริมาณวิเคราะห์	8
1.3.3 ซิลิกา	8
1.3.3.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับซิลิกา	8
1.3.3.2 การสังเคราะห์ซิลิกา	9
1.3.3.3 เทคนิคที่ใช้ในการศึกษาลักษณะของซิลิกา	10
1.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	15
บทที่ 2 การทดลอง	18
2.1 สารเคมีและอุปกรณ์	18
2.1.1 สารเคมี	18
2.1.2 อุปกรณ์	19
2.2 วิธีการทดลอง	19
2.2.1 การเตรียมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	19
2.2.1.1 การเตรียมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยใช้วิธีการตกกรดและการสกัดด้วยตัวทำละลาย	19
2.2.1.2 การหาค่าความเข้มข้นวิกฤตของไมเซลล์ (critical micelle concentration, CMC)	19
2.2.2 การสังเคราะห์ซิลิกา	20

หน้า

2.2.2.1 การสังเคราะห์ซิลิกาที่ใช้ CTAB เป็นสารต้นแบบ 20
2.2.2.2 การสังเคราะห์ซิลิกาที่ใช้ SDS เป็นสารต้นแบบ 20
2.2.2.3 การกำจัดสารต้นแบบออกจากซิลิกาด้วยวิธีการเผาที่อุณหภูมิสูง (Calcination) 20
2.2.2.4 การศึกษาสมบัติทางกายภาพของซิลิกา 22
2.2.3 การสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยซิลิกา 22
2.2.3.1 การหาชนิดของซิลิกาที่เหมาะสมในการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 22
2.2.3.2 การหาความสามารถในการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของซิลิกา 22
2.2.3.3 การศึกษาปัจจัยด้านเวลาที่มีผลต่อความสามารถในการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของซิลิกา 22
2.2.4 การสังเคราะห์ซิลิกาโดยใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นสารต้นแบบ 22
2.2.4.1 การสังเคราะห์ซิลิกาที่ใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นสารต้นแบบตามวิธีของ Toshiyoki และคณะ 23
2.2.4.2 การสังเคราะห์ซิลิกาที่ใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นสารต้นแบบตามวิธีของ Vittorio และคณะ 23
บทที่ 3 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง 24
3.1 การเตรียมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 24
3.2 การสังเคราะห์ซิลิกา 26
3.2.1 การหาปริมาณสารอินทรีย์ที่มีอยู่ในซิลิกาโดยใช้วิธีการเผาที่อุณหภูมิสูง (calcination) 26
3.2.2 การตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันในซิลิกา 28
3.3.3 การศึกษาลักษณะความเป็นผลึกของซิลิกา 30
3.3.4 การหาพื้นที่ผิว ขนาดรูพรุนและการกระจายรูพรุนของซิลิกา 32
3.4 การสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยซิลิกา 35
3.4.1 การศึกษาเบื้องต้นเพื่อหาความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและเวลาสกัดที่เหมาะสมในการศึกษา 35
3.4.2 การหาชนิดของซิลิกาที่เหมาะสมในการดูดซับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 37
3.4.3 ความสามารถในการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของซิลิกา 39
3.4.4 ปัจจัยด้านเวลาที่มีผลต่อความสามารถในการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของซิลิกา 40
3.5 การสังเคราะห์ซิลิกาโดยใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นสารต้นแบบ 41
บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง 45
เอกสารอ้างอิง 46
ภาคผนวก 48
ประวัติผู้วิจัย 58

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	ชนิดของซิลิกาที่สังเคราะห์ในงานวิจัยนี้	21
3.1	ค่าแรงตึงผิวของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	24
3.2	ชนิดของซิลิกาที่สังเคราะห์ในงานวิจัยนี้	26
3.3	ปริมาณสารอินทรีย์ที่มีอยู่ในซิลิกาที่หาได้จากน้ำหนักสารที่หายไปหลังจากผ่านการเผาที่อุณหภูมิสูงและปริมาณสารอินทรีย์ที่มีอยู่ในซิลิกาทางทฤษฎีคำนวณได้จากองค์ประกอบที่ใช้ในการสังเคราะห์	27
3.4	ระยะระหว่างระนาบ (d) ของซิลิกาชนิด GCc	31
3.5	สมบัติทางกายภาพของซิลิกาชนิดต่าง ๆ	35
3.6	ค่าแรงตึงผิวของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพหลังผ่านการสกัดเป็นเวลา 3 ชั่วโมง และ 1 วัน	36
3.7	ค่าแรงตึงผิวของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ความเข้มข้นต่าง ๆ หลังจากทำการสกัดด้วยซิลิกา	37
3.8	ค่าแรงตึงผิวของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพหลังผ่านการสกัดด้วยซิลิกาแต่ละชนิด	38
3.9	ค่าแรงตึงผิวของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพหลังจากสกัดด้วยซิลิกาปริมาณต่าง ๆ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง	39
3.10	ค่าแรงตึงผิวของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพหลังผ่านการสกัดเป็นเวลาต่าง ๆ	40
3.11	ชนิดของซิลิกาที่สังเคราะห์โดยใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นสารต้นแบบ	41
3.12	สมบัติทางกายภาพของซิลิกา GBSTc และ GBSVc	44
ผ.1	องค์ประกอบโดยโมลของสารที่ใช้ในการสังเคราะห์ซิลิกาชนิดต่าง ๆ	43
ผ.2	องค์ประกอบโดยโมลของสารที่ใช้ในการสังเคราะห์ซิลิกาที่ใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นสารต้นแบบ	49
ผ.3	ค่าแรงตึงผิวของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพหลังผ่านการสกัดเป็นเวลา 3 ชั่วโมง และ 1 วัน	51
ผ.4	ค่าแรงตึงผิวของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ความเข้มข้น 100 mg/L หลังจากทำการสกัดด้วยซิลิกาชนิดต่าง ๆ	51
ผ.5	ค่าแรงตึงผิวของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ความเข้มข้น 50 mg/L หลังจากทำการสกัดด้วยซิลิกาชนิดต่าง ๆ	52
ผ.6	ค่า $Q_{วิกฤต}$ ที่ความเชื่อมั่น 90% 95% และ 99%	53
ผ.7	ค่า $f_{วิกฤต}$ ที่ความเชื่อมั่น 95%	54
ผ.8	ตาราง ANOVA	54
ผ.9	ตาราง ANOVA ของการเปรียบเทียบค่าแรงตึงผิวเริ่มต้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพทั้ง 3 วัน	55
ผ.10	ผลการวิเคราะห์ Independent-Samples T test เปรียบเทียบระหว่างค่าแรงตึงผิวก่อนและหลังสกัดด้วยซิลิกา GCc	55

ตารางที่		หน้า
ผ.11	ผลการวิเคราะห์ Independent-Samples T test เปรียบเทียบระหว่างค่าแรงตึงผิวก่อนและหลังสกัดด้วยซิลิกา GSc	56
ผ.12	ผลการวิเคราะห์ Independent-Samples T test เปรียบเทียบระหว่างค่าแรงตึงผิวก่อนและหลังสกัดด้วยซิลิกา GCAc	56
ผ.13	ผลการวิเคราะห์ Independent-Samples T test เปรียบเทียบระหว่างค่าแรงตึงผิวก่อนและหลังสกัดด้วยซิลิกา GSAc	57
ผ.14	ผลการวิเคราะห์ Independent-Samples T test เปรียบเทียบระหว่างค่าแรงตึงผิวก่อนและหลังสกัดด้วยซิลิกา GSAae	57

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1.1	ลักษณะของสารลดแรงตึงผิว	2
1.2	โครงสร้างต่าง ๆ ของสารลดแรงตึงผิว (a) surfactant monomer (b) circular micelle (c) rod-shape micelle (d) micellar layer (e) vesicle representation	3
1.3	ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวในรูปลอการิทึมกับค่าแรงตึงผิว และสมการเส้นตรงที่ใช้ในการคำนวณหาจุดตัดซึ่งเป็นค่า CMC ของสารลดแรงตึงผิว	4
1.4	กลไกการดูดซับแบบ normal phase SPE	6
1.5	กลไกการดูดซับแบบ reversed phase SPE	7
1.6	กลไกการดูดซับแบบ Ion-exchange SPE	7
1.7	ลักษณะโครงสร้างของซิลิกา	9
1.8	IR สเปกตรัมของ fused silica	11
1.9	การเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์เมื่อตกกระทบอะตอม	12
1.10	ไอโซเทอมของการดูดซับและการคายไนโตรเจนตาม IUPAC	14
1.11	Hysteresis loops ทั้ง 4 แบบตาม IUPAC	15
1.12	การล้อมรอบสารต้นแบบของสายพอลิไซลอกเซนที่มีหมู่อะมิโนต่อยู่ ด้วยลักษณะแรงดึงดูดระหว่างประจุตรงข้ามกัน (counter ion)	17
2.1	สูตรโครงสร้างของรีเอเจนต์หลักที่ใช้ในการสังเคราะห์ซิลิกา	18
2.2	รูปแบบการเพิ่มอุณหภูมิของการเผาซิลิกาในเตาเผา	21
3.1	ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ สมการที่ใช้ในการคำนวณหาจุดตัดของเส้นตรงเพื่อใช้ในการหาค่า CMC และจุด CMC	25
3.2	IR สเปกตรัมของซิลิกา GC และ GCc	28
3.3	IR สเปกตรัมของซิลิกา GS และ GSc	28
3.4	IR สเปกตรัมของซิลิกา GCA และ GCAc	29
3.5	IR สเปกตรัมของซิลิกา GSA และ GSAc	29
3.6	IR สเปกตรัมของซิลิกา GSA และ GSAae	30
3.7	รูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ของซิลิกาชนิดต่าง ๆ ที่ผ่านการเผาที่อุณหภูมิสูง	31
3.8	รูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ของซิลิกาชนิด GSAae	32
3.9	Nitrogen adsorption-desorption isotherm ของซิลิกาที่ผ่านการเผาที่อุณหภูมิสูง	33
3.10	Nitrogen adsorption-desorption isotherm ของซิลิกา GSAae	33
3.11	BJH pore size distribution ของซิลิกาที่ผ่านการเผาที่อุณหภูมิสูง	34
3.12	BJH pore size distribution ของซิลิกาชนิด GSAae	35

รูปที่		หน้า
3.13	ค่าแรงตึงผิวของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพหลังจากสกัดด้วยซิลิกาปริมาณต่าง ๆ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง	40
3.14	IR สเปกตรัมของซิลิกา GBST และ GBSTc	42
3.15	IR สเปกตรัมของซิลิกา GBSV และ GBSVc	42
3.16	รูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ของซิลิกา GBSTc และ GBSVc	43
3.17	Nitrogen adsorption-desorption isotherm ของซิลิกา GBSTc และ GBSVc	43
3.18	BJH pore size distribution ของซิลิกาชนิด GBSTc และ GBSVc	44

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

FTIR	fourier transform infrared spectroscopy
XRD	X-ray powder diffraction
BET	Brunauer-Emmett-Teller equation
BJH	Barret-Joyner-Halenda equation
TEOS	tetraethoxysilane
APTES	(3-aminopropyl)triethoxysilane
CTAB	cetyltrimethyl ammonium bromide
SDS	sodium dodecylsulfate
MeOH	methanol
EtOH	ethanol
deg.	degree

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันความต้องการด้านการใช้พลังงานเชื้อเพลิงจากน้ำมันปิโต รเลียมมีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างมาก ทำให้การคิดค้นและแสวงหาพลังงานทดแทนในรูปแบบอื่นที่มีความยั่งยืนกว่าเชื้อเพลิงจากน้ำมันปิโตรเลียมที่ได้จากซากดึกดำบรรพ์มีมากขึ้นเช่นกัน หนึ่งในพลังงานทดแทนที่มีความสำคัญได้แก่พลังงานจากไบโอดีเซล ซึ่งในกระบวนการผลิตไบโอดีเซลนั้นได้กลีเซอรอลเป็นผลพลอยได้ โดยกลีเซอรอลนี้มีประโยชน์สำคัญในการใช้เป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อการเจริญเติบโตข องเชื้อแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ เช่น *Bacillus sp.* GY19, *Thiobacillus thiooxidans* และ *Aspergillus spp*. เป็นต้น และแปรสภาพเป็นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากการย่อยของแบคทีเรีย โดยที่สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้นั้นมีคุณสมบัติเช่นเดียวกันกับสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ [1] จากงานวิจัยที่ผ่านมา [2,3] ได้ทำการศึกษาและรวบรวมข้อดีของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเมื่อเทียบกับสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ พบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีข้อดีเหนือกว่าสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ในหลาย ๆ ด้าน กล่าวคือ สารลดแรงตึงผิวชีวภาพนั้นสามารถย่อยสลายได้เองตามธรรมช าติ มีความเป็นพิษต่ำ สามารถเข้ากันได้กับสิ่งมีชีวิตและไม่เป็นอันตรายเมื่อเข้าสู่ร่างกาย สารตั้งต้นที่ใช้ในการผลิตหาได้ง่ายและมีราคาถูก นอกจากนั้นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพยังมีประโยชน์ในงานด้านสิ่งแวดล้อม เช่น การกำจัดและการนำกลับมาใช้ใหม่ของไขมันในดิน การกำจัดโลหะหนักในดินและแหล่งน้ำธรรมชาติ และการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเพื่อลดการใช้สารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ เป็นต้น ดังนั้นการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเพื่อทดแทนสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์จึงมีความน่าสนใจ

อย่างไรก็ตาม การทำให้สารลดแรงตึงผิวที่ผลิตได้นี้มีความบริสุทธิ์นั้ นทำได้ยาก โดยขั้นตอนการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในปัจจุบันมีหลายวิธี เช่น การตกตะกอนด้วยกรด การสกัดด้วยตัวทำละลาย การทำให้ตกผลึก การตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตและการปั่นเหวี่ยง เป็นต้น ซึ่งเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายเป็นวิธีที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย เนื่องจาก สามารถใช้กับสารลดแรงตึงผิวได้หลายชนิดและมีประสิทธิภาพ แต่ตัวทำละลายที่นิยมใช้ทั่วไปนั้น มีความเป็นพิษและก่อให้เกิดอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม อีกทั้งในการสกัดต้องใช้ปริมาณตัวทำละลายค่อนข้างมาก จึงมีค่าใช้จ่ายสูง [4] อีกเทคนิคหนึ่งที่น่าสนใจคือเทคนิคการสกัดด้วยเฟ สของแข็ง (solid phase extraction, SPE) เนื่องจากเป็นวิธีที่มีราคาถูก สามารถทำการสกัดแบบต่อเนื่องและใช้ซ้ำได้ ไม่ต้องใช้อุปกรณ์จำเพาะ สามารถใส่ลงไปในสารละลายได้โดยตรง สามารถใช้ร่วมกับเครื่องมือวิเคราะห์อื่น ๆ และที่สำคัญคือลดปริมาณการใช้ตัวทำละลายในการสกัด โดยเฟสของแข็งที่เป็นที่นิยมได้แก่ ซิลิกา เนื่องจากเป็นวัสดุที่มีความเสถียรสูง ทนต่อแรงกระทำทางกายภาพและทางเคมี มีคุณสมบัติที่ไม่บวมน้ำ จึงสามารถใช้กับสารที่มีน้ำเป็นตัวทำละลายได้ดี อีกทั้งยังเกิดกลไกการดูดซับได้หลายแบบ

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะสังเคราะห์ซิลิกาที่มีความสามารถในการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่เกิดจากการย่อยสลายกลีเซอรอลของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. GY19 และศึกษาแนวทางในการนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพดังกล่าวไปใช้เป็นสารต้นแบบในการสังเคราะห์ซิลิกา เพื่อลดต้นทุนและเป็นการเพิ่ มมูลค่าให้กับของเหลือทิ้งต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ

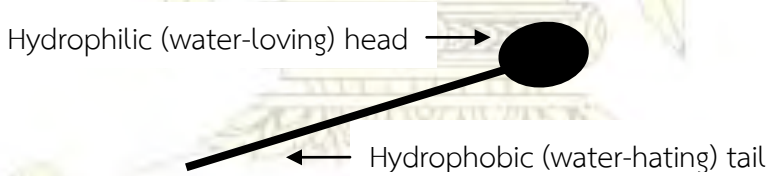
1. สังเคราะห์ซิลิกาที่มีความสามารถในการดูดซับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ
2. สังเคราะห์ซิลิกาที่ใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นสารต้นแบบ

1.3 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

1.3.1 สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

1.3.1.1 สารลดแรงตึงผิว

สารลดแรงตึงผิว (surfactant) เป็นสารที่เมื่อละลายน้ำแล้วจะช่วยลดแรงตึงผิวของน้ำ คำว่า surfactant หรือ surface active agent มีลักษณะที่สำคัญ 2 ส่วน ได้แก่ ส่วนหัวที่เป็น hydrophilic (ชอบน้ำ) และส่วนหางที่เป็น hydrophobic (ไม่ชอบน้ำแต่ชอบน้ำมัน) แสดงดังรูปที่ 1.1 โดยหลักการ ทำงานของสารลดแรงตึงผิวคือ ส่วนที่ชอบน้ำจะทำการจับกับน้ำ และส่วนที่ชอบน้ำมันจะทำการจับกับไขมันที่ไม่สามารถละลายน้ำได้ ทำให้ไขมันหลุดออกไปแล้วแขวนลอยอยู่ในน้ำ

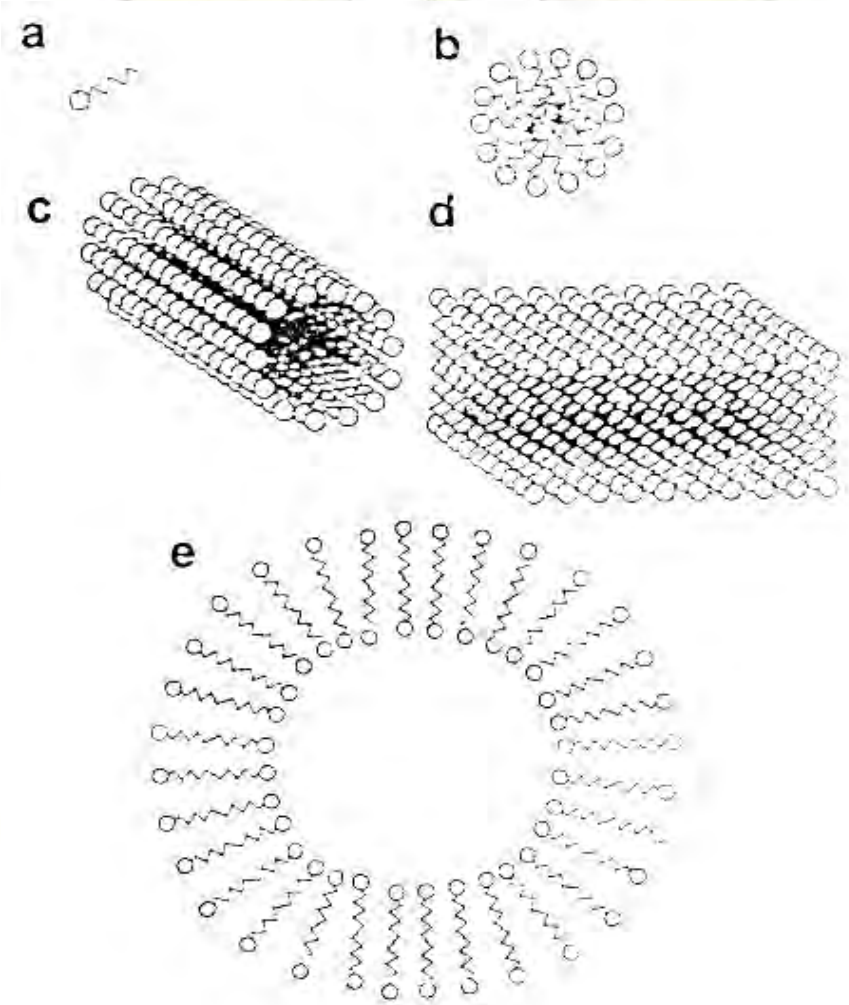


รูปที่ 1.1 ลักษณะของสารลดแรงตึงผิว [5]

เมื่ออยู่ในสารละลาย โมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวจะสะสมบริเวณผิวหน้า (surface) ของตัวทำละลาย เนื่องจากโครงสร้างดังกล่าว จึงทำให้ลดค่าแรงตึงผิวของสารละลายนั้น ทำให้สารประกอบประเภทไฮโดรคาร์บอนสามารถละลายในน้ำได้ หรือส่วนของน้ำละลายในไฮโดรคาร์บอนได้ ซึ่งจาก สมบัตินี้จึงเหมาะสมในการเป็นสารชะล้าง (detergent) สารเกิดฟอง และการเกิดอิมัลชัน ค่าแรงตึงผิวมีหน่วยเป็นมิลลินิวตันต่อเมตร (mN/m) หรือไดน์ (Dyne) โดยทั่วไปสารลดแรงตึงผิ วมีหน้าที่ลดแรงตึงผิว ระหว่าง พื้นที่ผิวสองด้าน ที่สัมผัสกัน เ ช่น ลดแรงตึงผิวระหว่างของแข็งกับของเหลว ระหว่างของเหลวกับของเหลว และระหว่างของเหลวกับแก๊ส โดยค่าแรงตึงผิวระหว่างพื้นที่ผิวของของเหลวกับอากาศ เรียกว่าค่าแรงตึงผิว (surface tension) และระหว่างพื้นที่ผิว ระหว่างน้ำกับน้ำมัน เรียกว่าค่าแรงตึงระหว่างผิว (interfacial tension)

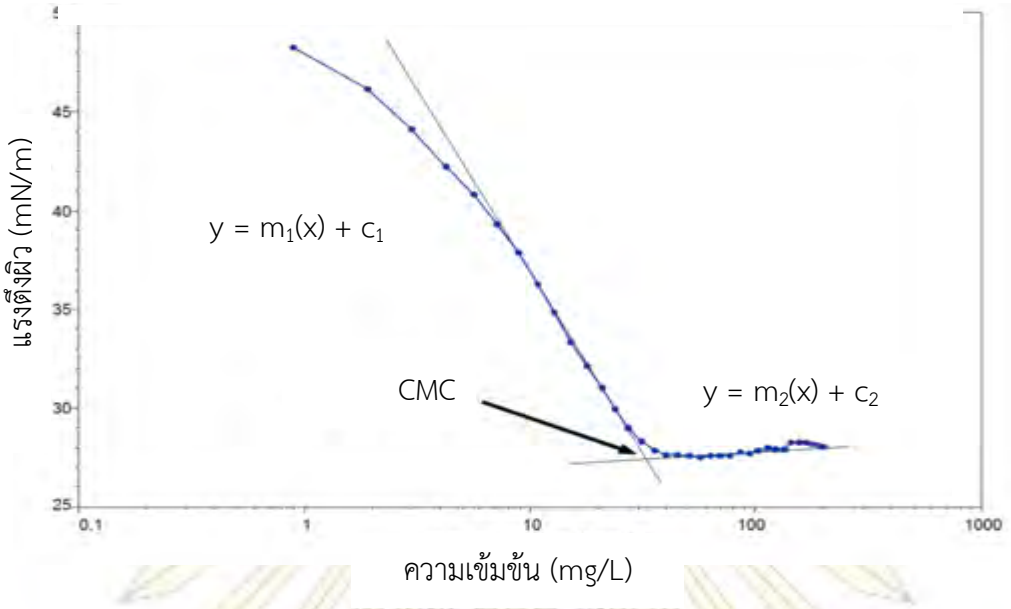
เมื่อสารลดแรงตึงผิวมีความเข้มข้นมากขึ้นในตัวทำละลาย โมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวจะหันส่วนที่ไม่ชอบน้ำเข้าหากัน ด้วยแรงจับกันของสารลดแรงตึงผิว (surfactant self-association) เกิดเป็นโครงสร้างที่เรียกว่า “ไมเซลล์” (micelle) ขึ้น ลักษณะการเกิดไมเซลล์แสดงดังรูปที่ 1.2 ซึ่งความเข้มข้น ณ จุดที่ทำให้โมเลกุลของสาร

ลดแรงตึงผิวมารวมตัวกันนี้ เป็นสมบัติเฉพาะของสารลดแรงตึงผิวแต่ละชนิด เรียกความเข้มข้น ณ จุดนี้ว่า ความเข้มข้นวิกฤตของไมเซลล์ (critical micelle concentration, CMC) การเกิดไมเซลล์ จะมีผลต่อค่าแรงตึงผิ วของสารละลาย เมื่อความเข้มข้นของสา รลดแรงตึงผิวในสารละลายเพิ่มขึ้น ค่าแรงตึงผิวของสารละลายจะมีค่าลดลงเรื่อย ๆ จนถึงจุด CMC ณ จุดนี้ค่าแรงตึงผิวของสารละลายจะไม่ลดลงอีก ถึงแม้จะเพิ่มความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวในสารละลายไปมากขึ้นอีกเท่าไรก็ตาม



รูปที่ 1.2 โครงสร้างต่าง ๆ ของสารลดแรงตึงผิว (a) surfactant monomer (b) circular micelle (c) rod-shape micelle (d) micellar layer (e) vesicle representation [5]

การหาความเข้มข้นวิกฤตของไมเซลล์จากค่าแรงตึงผิว ทำได้โดยการเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของส ารลดแรงตึงผิวกับค่าแรงตึงผิว (รูปที่ 1.3) และแบ่งช่วงของข้อมูลออกเป็น 2 ช่วง คือ ช่วงที่ค่าแรงตึงผิวแปรเปลี่ยนตามความเข้มข้นกับช่วงที่ค่าแรงตึงผิวไม่เปลี่ยนแปลงตามความเข้มข้น แล้วคำนวณหาจุดตัดของเส้นตรงทั้ง 2 เส้นนี้ จากสมการเส้นตรง $y = m(x) + c$ ซึ่งจุดตัดนี้ จะให้ค่าความเข้มข้นวิกฤตของไมเซลล์ออกมา



รูปที่ 1.3 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวกับค่าแรงตึงผิว และสมการเส้นตรงที่ใช้ในการคำนวณหาจุดตัดซึ่งเป็นค่า CMC ของสารลดแรงตึงผิว [6]

สารลดแรงตึงผิวสามารถแบ่งออกเป็น 4 ชนิดขึ้นอยู่กับประจุไฟฟ้าบนส่วนประกอบที่ละลายน้ำได้

1. สารลดแรงตึงผิวชนิดแคตไอออน (Cationic surfactant) เป็นสารลดแรงตึงผิวที่มีประจุไฟฟ้าเป็นประจุบวกบนส่วนที่ละลายน้ำ ซึ่งส่วนมาก มักเป็นสารประเภทควอเทอร์นารี แอมโมเนียม (quarternary ammonium) เช่น เซทิลไตรเมทิลแอมโมเนียม โบรไมด์ (cethyltrimetylammonium bromide, CTAB)

2. สารลดแรงตึงผิวชนิดแอนไอออน (Anionic surfactant) เป็นสารลดแรงตึงผิวที่มีประจุไฟฟ้าเป็นลบบนส่วนที่ละลายน้ำ ซึ่งส่วนมากแสดงในรูป คาร์บอกซิเลต ซัลเฟต ซัลโฟเนต และฟอสเฟต เช่น โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (sodiumdodecyl sulfate, SDS) เป็นต้น

3. สารลดแรงตึงผิวที่ไม่มีประจุ (Nonionic surfactant) สารลดแรงตึงผิวประเภทนี้จะไม่มีประจุบนส่วนที่ละลายน้ำ แต่จะมีสารประเภทพอลิ อีเทอร์หรือพอลิไฮดรอกซิล ทำหน้าที่แสดงสมบัติคล้ายพวกที่มีประจุเช่น Triton X-100

4. สารลดแรงตึงผิวแอมโฟเทอริก หรือ สวิทเท อร์ไอออน (Amphoteric surfactant หรือ Zwitterions) เป็นสารลดแรงตึงผิวที่มีประจุบนส่วนที่ละลายน้ำทั้งประจุบวกและประจุลบ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรด -ด่างของสภาพแวดล้อม ถ้าสภาพแวดล้อมที่เป็นด่าง (pH>7) ประจุไฟฟ้าบน hydrophilic จะให้ประจุลบ ถ้าสภาพแวดล้อมที่เป็นกรด (pH<7) ประจุไฟฟ้าบน hydrophilic จะให้ประจุบวก และในสภาวะที่เป็นกลางจะไม่เกิดการให้ประจุบนส่วน hydrophilic เช่น alkylbetaine

คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.3.1.2 สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (Biosurfactant) เป็นผลิตภัณฑ์ชีวภาพที่ได้จากจุลินทรีย์หลากหลายชนิด ทั้งจากแบคทีเรีย ยีสต์ และรา เป็นผลิตภัณฑ์ประเภทที่หลั่งออกมานอกเซลล์ สามารถเก็บรวบรวมได้ง่าย และเป็นสารที่มีองค์ประกอบหลากหลาย ทำให้มีลักษณะเฉพาะตัว มีสมบัติทางกายภาพ เคมี และชีวภาพที่แตกต่างกัน ด้วยเหตุนี้จึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ ได้หลา กหลาย เช่น อุตสาหกรรมการเกษตร เครื่องหนัง เครื่องสำอาง การก่อสร้าง อาหารและเบียร์ ยา และอุตสาหกรรมปิโตรเลียม เป็นต้น

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพนั้นมีโครงสร้างของโมเลกุลเป็นแบบแอมฟิพาติก (amphipathic molecules) ประกอบด้วย 2 ส่วน คือส่วนที่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำ (hydrophilic and hydrophobic moieties)

1. ส่วนที่ชอบน้ำหรือส่วนหัว (hydrophilic head group) อาจจะเป็น คาร์โบไฮเดรต กรดคาร์บอกซิลิก กรดอะมิโนที่มีหมู่ฟอสเฟต เปปไทด์ที่เป็นวงหรือแอลกอฮอล์

2. ส่วนที่ไม่ชอบน้ำหรือส่วนหาง (hydrophobic tail group) อาจจะเป็นกรดไขมันสายโซ่ยาว hydroxyl fatty acid หรือ α-alkyl-β-hydroxy fatty acid

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพหากแบ่งตามลักษณะของโครงสร้าง สามารถแบ่งออกเป็น 4 แบบ ดังนี้

1. ไกลโคลิพิด (glycolipid) สารลดแรงตึงผิวส่วนใหญ่มักอยู่ในกลุ่มนี้ มีโครงสร้างที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตที่เป็นน้ำตาลโมเลกุลต่าง ๆ เช่น น้ำตาล แรมโนส (rhamnose) ทีฮาโลส (trehalos) ซูโครส (sucrose) และกลูโคส (glucose) เชื่อมต่อกับกรดอะลิฟาติกสายโซ่ยาว (long-chain aliphatic acids) หรือกรดไฮดรอกซี่อะลิฟาติก (hydroxyaliphatic acids) กลุ่มย่อย ๆ ของสารลดแรงตึงผิวกลุ่มไกลโคลิพิดเป็นที่รู้จักกันดี ได้แก่ rhamnolipids trehalolipids และ sophorolipids เป็นต้น

2. ลิโพเพปไทด์ (lipopeptide) สารลดแรงตึวผิวชนิดนี้มักถูกผลิตจากจุลินทรีย์สกุล *Bacillus* โดยมีไขมันจับอยู่กับสายเพปไทด์ ซึ่งสารในกลุ่มนี้นับว่าเป็นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีประสิทธิภาพสูงสุด นอกจากนี้ยังคงมีสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ ตัวอย่างของสารกลุ่ม cyclic lipopeptides ในกลุ่มนี้ เช่น decapeptide antibiotics (gramicidins) จากเชื้อ *Bacillus brevis* และ lipopeptide antibiotics (polymyxins) จากเชื้อ *Bacillus polymyxa*

3. ฟอสโฟลิพิด กรดไขมัน และนิวทรัลลิพิ ด (phospholipids, fatty acids and neutral lipids) เช่น ustilagic acid, corynemomycolic acid, lipoteichoic acid และ hydrophobic protein รวมทั้ง phospholipids สารลดแรงตึงผิวกลุ่มนี้จะมีการสะสมไขมันในโครงสร้างถึง 40-80 เปอร์เซ็นต์ (w/w) เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่มี hexadecane และ olive oil วิธีวัดค่าของสารกลุ่มนี้ คือ การวัดการเปลี่ยนแปลงของ hydrophilic-lipophilic balance (HLB) ซึ่งเป็นวิธีที่สัมพันธ์โดยตรงกับสายยาวของไฮโดรคาร์บอนในโครงสร้าง

4. สารลดแรงตึงผิวชนิดพอลิเมอร์ริก (polymeric surfactant) เป็นสารที่เกิดขึ้นจากการรวมตัวของหน่วยพอลิแซคคาไรด์-โปรตีน และหน่วยของกรดไขมัน มีลักษณะเป็นพอลิเมอร์ในธรรมชาติ ตัวอย่างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในกลุ่มนี้ คือ emulsan alasan และ biodispersan เป็นต้น

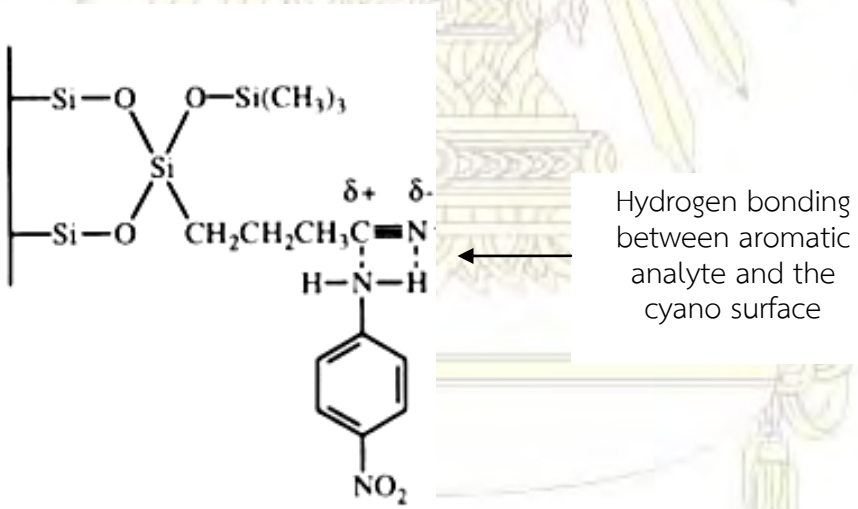
1.3.2 การสกัดด้วยเฟสของแข็ง (solid phase extraction, SPE)

เทคนิคการสกัดเฟสของแข็งเป็นเทคนิคที่ใช้สารซึ่งเป็นของแข็งที่มีรูพรุน ทำหน้าที่ดูดซับ (absorb) สารเป้าหมายซึ่งมักเป็นตัวถูกละลายหรือแขวนลอยอยู่ในเฟสของเหลว (liquid phase) ไว้บนพื้นผิวของเฟสของแข็ง (solid phase) แล้วใช้ตัวชะที่เหมาะสมในการละลายตัวถูกละลายออกจากเฟสของแข็ง จึงสามารถแยกสารเป้าหมายออกจากสารละลาย ทำให้สารที่ต้องการวิเคราะห์มีความบริสุทธิ์มากยิ่งขึ้น ทั้งด้านสารเป้าหมายหรือด้านสารละลายก็ดี เทคนิคนี้ มีข้อดีคือ ใช้ตัวทำละลายในปริมาณน้อย จึงเหมาะกับการวิเคราะห์สารปริมาณน้อย (trace level) ได้เป็นอย่างดี อีกทั้งลดการเกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและลดต้นทุนในการกำจัดของเสีย

1.3.2.1 กลไกการทำงานของเทคนิคการสกัดด้วยเฟสของแข็ง

เทคนิคการสกัดด้วยเฟสของแข็งมีกลไกการทำงาน 4 แบบ ดังนี้ [7]

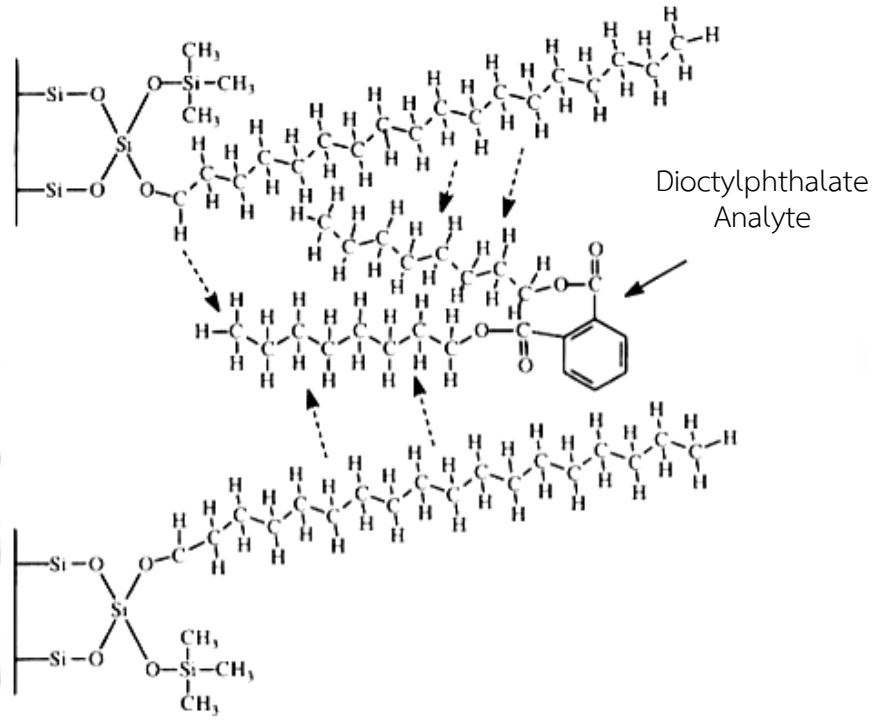
1. Normal phase SPE ใช้ในการแยกสารที่ต้องการวิเคราะห์ (analyte) ซึ่งเป็นสารที่มีขั้วออกจากสารตัวอย่าง (sample) ที่ไม่มีขั้วหรือมีขั้วน้อย โดยมีสารดูดซับ (sorbent) ซึ่งเป็นสารที่มีขั้ว ทำหน้าที่เป็น เฟสคงที่ในการแยกสาร โดยกลไกการดูดซับนั้นเกี่ยวข้องกับพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่ฟังก์ชันของสารที่ต้องการวิเคราะห์กับ active site ของสารดูดซับหรือเกิดผ่าน dipole-dipole interaction ตัวอย่างสารดูดซับที่ทำงานในลักษณะนี้ได้แก่ ซิลิกาที่มีหมู่ฟังก์ชัน cyanopropyl (CN), aminopropyl (NH_2) และ Diol (HO-R-OH, เมื่อ R คือหมู่ alkyl) เป็นต้น



รูปที่ 1.4 กลไกการดูดซับแบบ normal phase SPE [7]

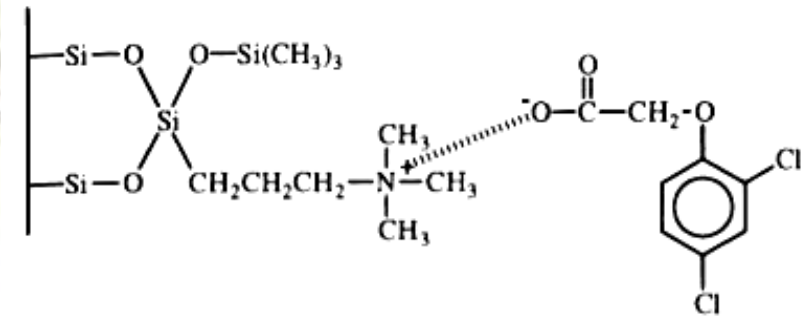
2. Reverse phase SPE ใช้สารดูดซับที่ไม่มีขั้วแยกสารที่ต้องการวิเคราะห์ที่ไม่มีขั้วออกจากสารตัวอย่างที่มีขั้วโดยอาศัยแรง Van der Waal's ตัวอย่างสารดูดซับที่ทำงานในลักษณะนี้ได้แก่ ซิลิกาที่มีหมู่ฟังก์ชัน cyclohexyl, octadecyl, และ octyl เป็นต้น

คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 1.5 กลไกการดูดซับแบบ reversed phase SPE [7]

3. Ion-exchange SPE ใช้ในการแยกสารที่ต้องการวิเคราะห์ที่มีประจุโดยอาจจะเป็นประจุบวกหรือประจุลบก็ได้ออกจากสารตัวอย่าง โดยสารดูดซับที่ใช้มักมีประจุตรงข้ามกับประจุของสารที่ต้องการวิเคราะห์ โดยกลไกการทำงานของ ion-exchange SPE นี้สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท ได้แก่ cation exchange SPE และ anion exchange SPE



รูปที่ 1.6 กลไกการดูดซับแบบ Ion-exchange SPE [7]

4. Adsorption SPE มักเกิดขึ้นเมื่อสารที่ต้องการวิเคราะห์ถูกดูดซับไว้บนพื้นผิวของสารดูดซับผ่านแรงยึดเหนี่ยวซึ่งอาจเป็น hydrophobic หรือ hydrophilic ก็ได้ ขึ้นอยู่กับชนิดของสารทั้งสอง

1.3.2.2 การสกัดด้วยเฟสของแข็งเชิงปริมาณวิเคราะห์

การสกัดด้วยเฟสของแข็งสามารถนำไปใช้งานทางด้านการสกัดแยกและงานทางด้านการทำให้สารมีความเข้มข้นขึ้น (preconcentration) ซึ่งวิธีการสกัดด้วยเฟสของแข็งทำได้ 2 แบบ คือ แบบคอลัมน์ (column method) ที่ทำงานแบบต่อเนื่อง และแบบแบทช์ (batch method) ที่ทำงานแบบไม่ต่อเนื่อง หลักการในการสกัดคือทำให้สารที่ต้องการวิเคราะห์ซึ่งอยู่ในเฟสของเหลวกระจายตัวอยู่ในเฟสของแข็ง เมื่อถึงเวลาที่สารที่ ต้องการวิเคราะห์อยู่ในภาวะที่สมดุลระหว่างทั้ง 2 เฟสแล้ว อัตราส่วนของการกระจายตัวของสารที่ต้องการวิเคราะห์ระหว่าง 2 เฟสจะมีค่าคงที่ เรียกอัตราส่วนนี้ว่า “สัมประสิทธิ์การกระจาย (Distribution coefficient, D)”ซึ่งบ่งบอกถึงประสิทธิภาพในการสกัด สามารถคำนวณได้จากสมการ 2 สมการ ดังนี้

$$q = (C_i - C_e) \times L/W \quad (1.1)$$

$$D = q/C_e \quad (1.2)$$

เมื่อ q คือ จำนวนของสารที่ถูกดูดซับบนเฟสของแข็ง (mol/$kg_{sorbent}$t หรือ mg/$g_{sorbent}$)

D คือ สัมประสิทธิ์การกระจายตัวของสาร (L/ $kg_{sorbent}$t)

C_i คือ ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารที่จะดูดซับในสารละลาย (mol/L)

C_e คือ ความเข้มข้นของสารที่จะดูดซับในสารละลายในสภาวะสมดุล (mol/L)

L คือ ปริมาตรของสารละลาย (L)

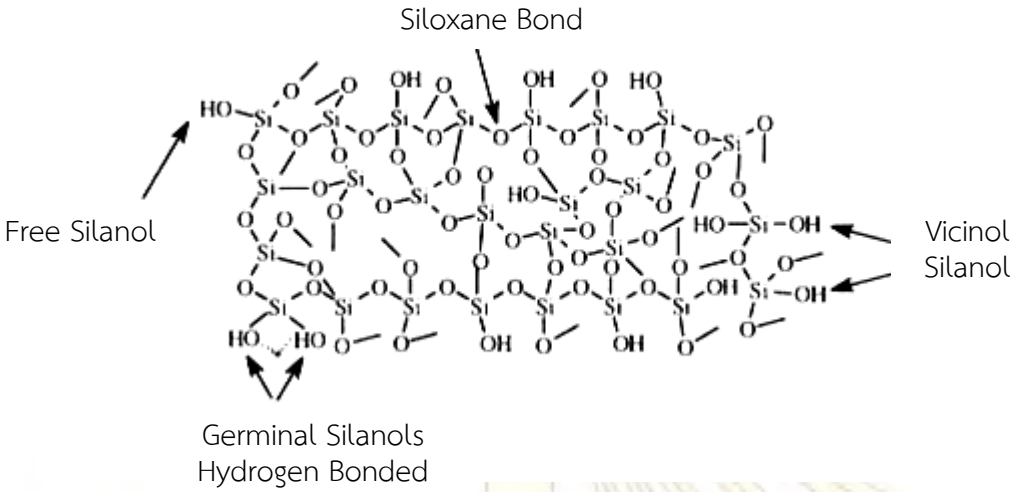
W คือ น้ำหนักของสารดูดซับ (kg)

1.3.3 ซิลิกา

1.3.3.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับซิลิกา

ซิลิกา (SiO_2) เป็นสารดูดซับที่นิยมศึกษากันอย่างแพร่หลาย เนื่องจาก เป็นวัสดุที่มีความเสถียรสูง ทนต่อแรงกระทำทางกายภาพและทางเคมี มีสมบัติที่ไม่บวมน้ำ จึงสามารถใช้กับสารที่มีน้ำเป็นตัวทำละลายได้ดี อีกทั้งยังเกิดกลไกการดูดซับได้หลายแบบ ซิลิกาประกอบไปด้วยซิลิกอน (Si) และออกซิเจน (O) ที่จัดเรียงตัวแบบเททระฮีดรัล (tetrahedral) แผ่ขยายออกเป็นโครงสร้าง 3 มิติ จนเกิดเป็นโครงร่างตาข่ายที่แข็งแรงและมีลักษณะทางกายภาพเป็นของแข็งที่มีรูพรุน (pore) ซิลิกาประกอบด้วยหมู่ฟังก์ชัน 2 หมู่ ได้แก่ พันธะไซลอกเซน (siloxane bond, Si-O-Si) และหมู่ซิลานอล (silanol group, Si-OH) โดยเฉพาะหมู่ซิลานอล ที่มีสมบัติเป็นกรดอ่อนๆ ทำให้ว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยา จึงได้นำเอาสมบัตินี้มาใช้ในการแยกสาร โดยหมู่ซิลานอลนี้สามารถแบ่งออกเป็นได้ 3 แบบ คือ free silanol, vicinal silanol, และgerminal silanol

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 1.7 ลักษณะโครงสร้างของซิลิกา [7]

โดยทั่วไปซิลิกาสามารถแบ่งออกเป็นประเภทต่างๆ ได้อีกขึ้นอยู่กับเกณฑ์ที่ใช้แบ่ง เช่น

1. แบ่งตามขนาดของรูพรุน (pore size) ซึ่งเป็นการแบ่งตาม IUPAC [7] ดังนี้
   1.1 Microporous silica คือ ซิลิกาที่มีขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางรูพรุนน้อยกว่า 2 nm
   1.2 Mesoporous silica คือ ซิลิกาที่มีขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางรูพรุนอยู่ระหว่าง 2 nm ถึง 50 nm
   1.3 Macroporous silica คือ ซิลิกาที่มีขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางรูพรุนมากกว่า 50 nm
2. แบ่งตามลักษณะการจัดเรียงตัวของโครงสร้างได้ดังนี้
   2.1 Amorphous silica คือ ซิลิกาที่มีการจัดเรียงตัวในโครงสร้างอย่างไม่เป็นระเบียบแบบแผน
   2.2 Crystalline silica คือ ซิลิกาที่มีการจัดเรียงตัวในโครงสร้างอย่างเป็นระเบียบแบบแผน

1.3.3.2 การสังเคราะห์ซิลิกา

การสังเคราะห์ ซิลิกาสามารถทำได้หลายวิธี เช่น ในทางอุตสาหกรรม ใช้วิธีการหลอมทรายกับโซเดียมคาร์บอเนตได้เป็นโซเดียมซิลิเกตที่ละลายในน้ำ แล้วนำมาตกตะกอนซิลิกาด้วยกรดซัลฟิวริก หรือการสังเคราะห์จากกรดซิลิซิก (silicic acid) โดยผ่านกระบวนการพอลิเมอไรเซชัน (polymerization) [8,9] แต่วิธีที่เป็นที่นิยมในการสังเคราะห์ซิลิกา คือการเตรียมผ่านกระบวนการโซล -เจล (sol-gel) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่ไม่รุนแรง สามารถควบคุมปัจจัยต่าง ๆ เพื่อให้เกิดซิลิกาในรูปแบบที่เราต้องการได้ง่าย [10] การสังเคราะห์ด้วยวิธีนี้มักใช้ซิลิกอนแอลคอกไซด์เป็นสารตั้งต้น เช่น เททระเมทอกซีไซเลน (tetramethoxysilane, TMOS) หรือเททระเอทอกซีไซเลน (tetraethoxysilane, TEOS) โดยใช้แอลกอฮอล์อย่างเมทานอลหรือเอทานอลเป็นตัวทำละลาย และใช้กรดหรือเบสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา โดยผ่านปฏิกิริยาที่สำคัญ 2 ปฏิกิริยา ดังนี้

1. <u>ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส</u> (hydrolysis reaction) เป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างน้ำกับซิลิกอนแอลคอกไซด์ เพื่อให้ได้หมู่ซิลานอลและได้แอลกอฮอล์เป็นผลิตภัณฑ์ร่วม

$$\equiv Si\text{-}OR + H_2O \underset{\text{esterification}}{\overset{\text{hydrolysis}}{\rightleftharpoons}} \equiv Si\text{-}OH + ROH \qquad (1.3)$$

2. <u>ปฏิกิริยาคอนเดนเซชัน</u> (condensation reaction) เป็นปฏิกิริยาที่เกิดต่อเนื่องทันทีจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส โดยหมู่ซิลานอลจะทำปฏิกิริยากับซิลิกอนแอลคอกไซด์หรือทำปฏิกิริยากันเอง เกิดเป็นพันธะไซลอกเซนต่อ ๆ ไป

$$\equiv Si\text{-}OR + \equiv Si\text{-}OH \underset{\text{alcoholysis}}{\overset{\text{alcohol condensation}}{\rightleftharpoons}} \equiv Si\text{-}O\text{-}Si\equiv + ROH \qquad (1.4)$$

$$\equiv Si\text{-}OH + \equiv Si\text{-}OH \underset{\text{hydrolysis}}{\overset{\text{water condensation}}{\rightleftharpoons}} \equiv Si\text{-}O\text{-}Si\equiv + H_2O \qquad (1.5)$$

การสังเคราะห์ซิลิกาด้วยวิธีข้างต้นมักได้ไมโครพอรัสซิลิกาที่มีการจัดเรียงโครงสร้างอย่างไม่เป็นระเบียบ จึงได้มีการพัฒนาการสังเคราะห์ซิลิกาให้มีโครงสร้างที่ มีความเป็นระเบียบขึ้น โดย Beck และคณะ [11] ในปี 1992 ได้ค้นพบวิธีสังเคราะห์เมโซพอรัสซิลิกาที่มีการจัดเรี ยงโครงส ร้างอย่างเป็นระเบียบ โดยใช้สารลด แรงตึงผิวชนิดแคตไอออนที่เป็นหมู่ quarternary ammonium ทำหน้าที่เป็นสารต้นแบบ (template) โดยเมโซพอรัสที่เตรียมได้นั้นมีการจัดเรียงโครงสร้างเป็นแถวเรียงกันเป็นรูปทรงหกเหลี่ยม (hexagonal array) มีพื้นที่ผิวสูง (> 1000 m^2/g) และมีขนาดรูพรุนตั้งแต่ 85 Å - 120 Å จากข้อได้เปรียบนี้ จึงได้มีงานวิจัยจำนวนมากศึกษาและพัฒนาวิธีการเตรียมเมโซพอรัสซิลิกาเพื่อใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ เช่น ใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา [12] หรือใช้เป็นสารดูดซับ [13] เป็นต้น

1.3.3.3 เทคนิคที่ใช้ในการศึกษาลักษณะของซิลิกา

1. เทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (FT-IR spectroscopy) [14]

เป็นเทคนิคที่ใช้ในการวิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันของสาร โดยพิจารณาจากพลังงานที่สารดูดกลืน (absorption) หรือปลดปล่อยออกมา (transmission) เพื่อใช้ในการสั่นของ พันธะของโมเลกุลในรูปแบบต่าง ๆ เมื่อสารดูดกลืนรังสีอินฟราเรดในช่วงพลังงาน 2-10 กิโลแคลอรี/โมล พลังงานของแม่เหล็กไฟฟ้าในย่านนี้ก่อให้เกิดการสั่นแบบยืด (stretching) และแบบงอ (bending) ของพันธะในโมเลกุลของสาร การดูดกลืนรังสีอินฟราเรดเป็นกระบวนการควันไทส (quantized) กล่าวคือ การที่สารจะดูดกลืนรังสีอินฟราเรดนั้น ความถี่ ของรังสีที่ถูกดูดกลืนจะต องตรงกั บความถี่ ของการ สั่นของพั นธะเท่ านั้น โดยสมการที่ใช้ ในการคำนวณหาพลังงานและเลขคลื่น (wavenumber) ได้แก่

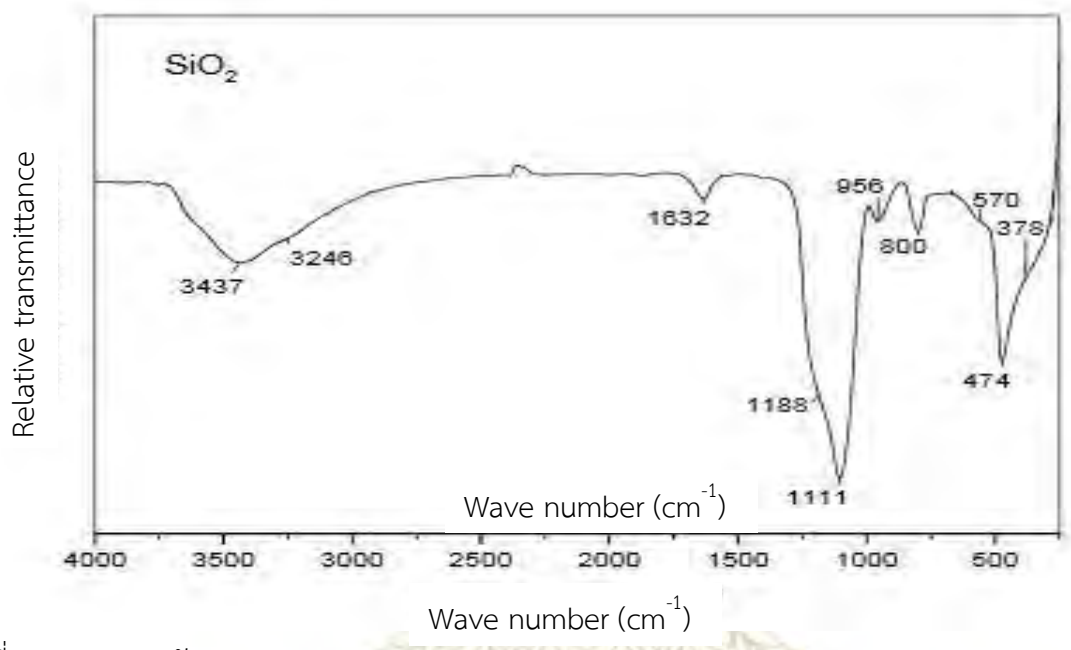
$$E = h\bar{\nu} = \frac{hc}{\lambda} \quad (1.6)$$

$$\bar{\nu} = \frac{1}{\lambda} \quad (1.7)$$

เมื่อ $\bar{\nu}$ คือ wavenumber (cm^{-1})

λ คือ ความยาวคลื่น (nm)

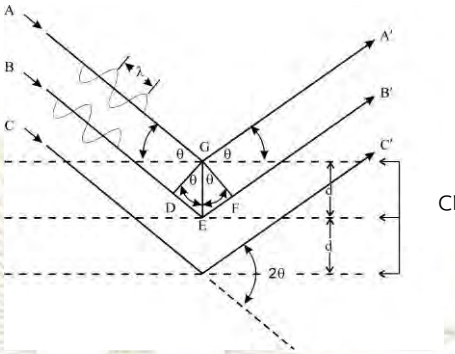
สำหรับหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญที่พบในซิลิกา แสดงได้ดังรูปที่ 1.8 ได้แก่ หมู่ซิลานอล (Si-OH) ซึ่งขึ้นแถบที่ความยาวคลื่น 3,437 และ 3,246 cm^{-1} และหมู่ไซลอกเซน (Si-O-Si) ซึ่งขึ้นแถบแบนที่ 1,188, 1111, 956, 800, 474 และ 378 cm^{-1}



รูปที่ 1.8 IR สเปกตรัมของ fused silica [15]

2. เทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-ray powder diffractometry, XRD)

เทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอ กซ์ (X-ray powder diffractometry, XRD) เป็นเทคนิคพื้นฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์การจัดเรียงโครงสร้างของอะตอมในโมเลกุลของสารประกอบต่าง ๆ เทคนิค นี้อาศัยหลักการของการยิงรังสีเอกซ์ไปกระทบกับผิวหน้าของสารประกอบ แล้วเกิดการกระเจิงและเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ที่มุมต่าง ๆ กัน เมื่อรังสีเอกซ์ กระทบกับผิวห น้าของสารประกอบโดยทำมุมเท่ากับ θ บางส่วนของรังสีเอ กซ์จะเกิดการกระเจิงจากผิวหน้าของอะตอม อีกส่วนหนึ่งจะผ่านลงไปยังชั้นที่สองของอะตอม ซึ่งบางส่วนก็เกิดการกระเจิงกลับขึ้นมา และส่วนที่เหลือจะทะลุผ่านต่อไปยังชั้นที่สามของอะตอม ถ้าหากสารประกอบมีความเป็นผลึกเรียง ตัวอยู่อย่างเป็นระเบียบและห่างเท่า ๆ กัน รังสีเอกซ์ที่ผ่านเข้าไปในแต่ละชั้นจะเกิดการเลี้ยวเบนเท่า ๆ กัน โดยมีเครื่องตรวจหา (detector) ทำหน้าที่รับและแปลงข้อมูล ข้อมูลที่ได้รับสามารถนำมาศึกษารายละเอียดเกี่ยวกับโครงสร้างของความเป็นผลึกของสารนั้น นอกจากนี้ข้อมูลที่ได้ยังสามารถนำไปหาปริมาณและขนาดของผลึกของสารประกอบนั้นได้อีกด้วย อีกทั้งยังเป็นเทคนิคที่ไม่ทำลายสารอีกด้วย



รูปที่ 1.9 การเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์เมื่อตกกระทบอะตอม [16]

ข้อมูลที่ได้จากเอกซ์เรดิฟแฟรกโตแกรมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างมุมของ Bragg (2θ) กับความเข้มข้น (I, Intensity) ของรังสีที่เลี้ยวเบน โดยอาจอยู่ในรูปของค่า I หรือค่า I/I_0 ก็ได้ โดยที่ I_0 เป็นความเข้มข้นของรังสีเอ กซ์ของพีกที่มีความเข้มมากที่สุด โดยให้พีกที่มีความเข้มข้นสูงสุด $I/I_0=100$ จากค่า 2θ สามารถคำนวณหาระยะห่างระหว่างชั้นของอะตอม (d) ในโครงสร้างของผลึกได้จากสมการของ Bragg ซึ่งระยะห่างระหว่างชั้นนี้เป็นค่าเฉพาะตัวของสารแต่ละชนิด

$$n\lambda = 2d \sin\theta \qquad (1.8)$$

เมื่อ n คือ เลขจำนวนเต็ม

λ คือ ความยาวคลื่นของรังสีเอกซ์ (nm)

d คือ ระยะห่างระหว่างชั้นของผลึกที่วิเคราะห์ (nm)

θ คือ มุมที่เกิดการเลี้ยวเบนหรือมุมระหว่างรังสีเอกซ์กับระนาบของ แลตทิซ (lattice plane) (degree)

ในงานวิจัยนี้ จึงใช้เทคนิค XRD มาใช้ในการตรวจสอบโครงสร้างของซิลิกาว่ามีความเป็นผลึก (crystalline) หรือเป็นวัสดุอสัณฐาน (amorphous) ซึ่งโดยทั่วไปซิลิกามีโครงสร้างเ ป็นอสัณฐานจึงไม่ปรากฏพีคใด ๆ ในเอกซ์เรดิฟแฟรกโตแกรม แต่ก็มีบางโครงสร้างของซิลิกาที่มีความเป็นผลึกอันเป็นลักษณะเฉพาะเช่นกัน

3. เทคนิคการวิเคราะห์การดูดซับไนโตรเจน (nitrogen sorption analysis)

เทคนิคการวิเคราะห์การดูดซับไนโตรเจน เป็นเทคนิคที่ใช้ในการหาลักษณะและขนาดของรูพรุน รวมทั้งพื้นที่ผิวจำเพาะของวัสดุดูดซับ โดยอาศัยการดูดซับแก๊สไนโตรเจนบนพื้นผิวของสารตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์

ในส่วนของสมการ Brunauer-Emmett-Teller (BET) ที่ใช้ในการคำนวณหาพื้นที่ผิวสามารถแสดง ในรูปสมการเส้นตรงได้ดังนี้

$$\frac{P}{n(P_0-P)} = \frac{1}{nC} + \frac{(C-1)}{n_mC} + \frac{P}{P_0} \qquad (1.9)$$

เมื่อ n คือ ปริมาณของแก๊สที่ดูดซับที่ความดัน P/P_0

n_m คือ monolayer capacity

C คือ ค่าคงที่ความร้อน

โดยสมการดังกล่าวสามารถประยุกต์ใช้ในการคำนวณหาพื้นที่ผิวจากค่า n_m ได้ดังนี้

$$A(BET) = n_m \times L \times a_m \qquad (1.10)$$

เมื่อ A(BET) คือ พื้นที่ผิวของวัสดุที่ทำหน้าที่เป็นสารดูดซับ (m^2/g)

L คือ Avogadro number

a_m คือ พื้นที่ผิวอะตอม 0.162 m^2/g ที่ 77 K (เมื่อใช้แก๊สไนโตรเจนในการทดสอบ)

สำหรับขนาดรูพรุน สามารถหาได้จากสมการ Barret-Joyner-Hakenda (BJH) ได้ดังนี้

$$r_C = \frac{-(2\gamma W_m \cos\theta)}{RT \ln(\frac{p}{p_0})} \qquad (1.11)$$

เมื่อ r_c คือ รัศมีของรูพรุน

γ คือ แรงตึงผิวของรูพรุน

θ คือ มุมสัมผัส

การตรวจสอบความเป็นรูพรุนของสารพิจารณาได้จากรูปแบบของไอโซเทอมของการดูดซับและการคายไนโตรเจน (N_2 adsorption-desorption isotherm) ซึ่ง IUPAC ได้จำแนกไว้ 6 รูปแบบ (type) ตามลักษณะโครงสร้างของรูพรุนของสารนั้น (รูปที่ 1.10) โดยไอโซเทอมเหล่านี้จะแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรของแก๊สไนโตรเจนที่ถูกดูดซับบนพื้นผิวของสารตัวอย่างกับความดันสัมพัทธ์ ตามรูปที่ 1.10 มีรายละเอียดดังนี้

ไอโซเทอม Type I ได้จากของแข็งที่มีรูพรุนขนาดไมโคร (microporous solids) โดยมีพื้นที่ผิวภายนอกน้อย เช่น ถ่านกัมมันต์ (activated carbon) ซีโอไลต์ และสารออกไซด์บางชนิด เป็นต้น ในส่วนของการดูดซับแก๊สจะเกิดขึ้นที่ความดันต่ำ ๆ (< 0.3) และเกิดการดูดซับในลักษณะ monolayer formation process

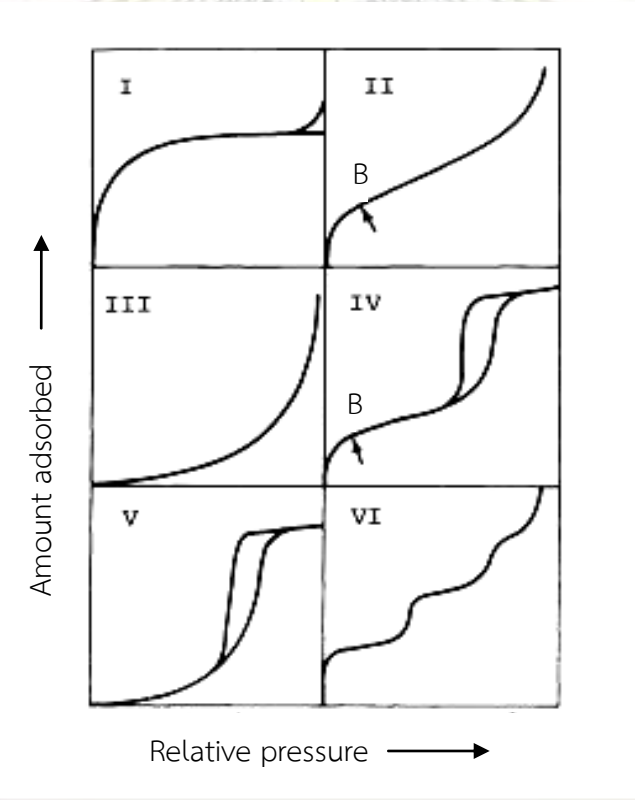
ในส่วนของไอโซเทอม Type II เกิดจากสารดูดซับที่ไม่มีรูพรุน (non-porous) หรือมีรูพรุนขนาดใหญ่ (macroporous) การดูดซับมักเป็นแบบ monolayer-multilayer โดยมีการหักโค้งที่จุด B ซึ่งแสดงว่ามีการดูดซับแก๊สในลักษณะ monolayer เสร็จสมบูรณ์แล้ว และกำลังเกิดการดูดซับในชั้นอื่นๆ (multilayer) ต่อไป

ในกรณีไอโซเทอม Type III นั้นจะไม่พบบ่อยนักแต่เกิดกับบางกรณี เช่นการดูดซับน้ำบนถ่านที่ไม่เป็นรูพรุน (non-porous carbon) หรือ แก๊สไนโตรเจนกับพอลิเอทิลีน ซึ่งการเกิดไอโซเทอมแบบนี้ อันตรกิริยาระหว่างสารดูดซับและสารที่ถูกดูดซับมีค่าน้อยกว่าเมื่อเทียบกับอันตรกิริยาระหว่างสารที่ถูกดูดซับและสารที่ถูกดูดซับ

สำหรับไอโซเทอม Type IV มีลักษณะที่เด่นชัดและมักสังเกตพบได้คือการมี hysteresis loop ซึ่งสัมพันธ์กับการเกิดการควบแน่นในโพรงขนาดเล็ก (capillary condensation) ในรูพรุนขนาดกลาง (mesoporous) โดยในตอนต้นนั้นมีการดูดซับแบบ monolayer-multilayer เช่นเดียวกับ Type II หลังจากนั้นที่ความดันสัมพัทธ์สูงขึ้น การดูดซับใน mesoporous จะเป็นลักษณะ multilayer จนกระทั่งถึงค่าหนึ่งจะเกิดการควบแน่นขึ้น ทำให้การดูดซับเพิ่มขึ้นได้รวดเร็ว ตัวอย่างของสารที่ให้ไอโซเทอมชนิดนี้ เช่น สารประกอบออกไซด์ที่ใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในอุตสาหกรรม เป็นต้น

ในไอโซเทอม Type V นั้น มักพบไม่บ่อยนัก ต่างกับไอโซเทอม Type III คืออันตรกิริยาระหว่างสารดูดซับและสารที่ถูกดูดซับมีค่าน้อยมากหรือแทบไม่มีเลย

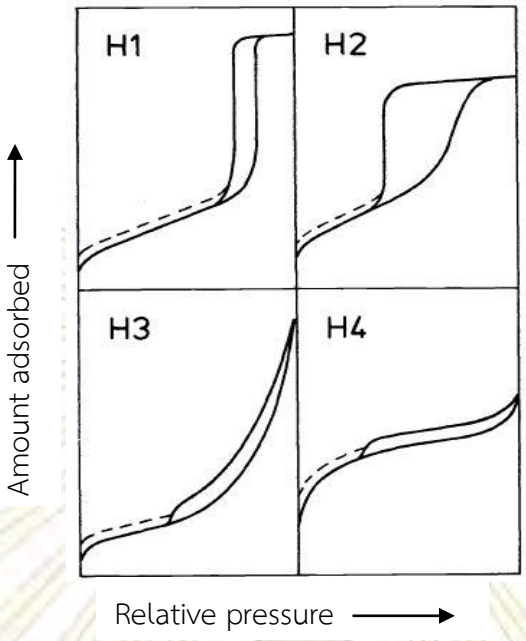
และสุดท้ายไอโซเทอม Type VI มีลักษณะเป็นขั้นบันไดแสดงการดูดซับแบบ multilayer ที่มีลักษณะเป็นชั้น ๆ บนพื้นผิวที่เป็น uniform-nonporous หรือ uniform ultramicroporous โดยความชันของแต่ล ะชั้นขึ้นกับระบบและอุณหภูมิที่ใช้ และความสูงในแต่ละชั้นแสดงถึงความสามารถในการดูดซับของชั้นนั้น ๆ ตัวอย่างของสารที่ให้ไอโซเทอมชนิดนี้เช่น การดูดซับแก๊สอาร์กอนหรือคริปทอนบน graphitized carbon blacks ที่อุณหภูมิไนโตรเจนเหลว



รูปที่ 1.10 ไอโซเทอมของการดูดซับและการคายไนโตรเจนตาม IUPAC [17]

สำหรับ hysteresis loops ในไอโซเทอมมักพบได้เมื่อมี capillary condensation เกิดขึ้นในโครงสร้างของ mesoporous materials ซึ่ง hysteresis loops นี้สามารถบอกถึงลักษณะของรูพรุนที่ แตกต่างกัน โดยสามารถแบ่งตามชนิดของ IUPAC ออกได้เป็น 4 แบบ [17] ดังดังแสดงในรูปที่ 1.11

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 1.11 Hysteresis loops ทั้ง 4 แบบตาม IUPAC [17]

Hysteresis loop แบบ H1 และ H2 มักพบในอนุภาคที่มีรูพรุนเป็นลักษณะช่องทรงกระบอก (cylindrical channel) ปากขวดกลมหรือรูพรุนที่เกิดจากการรวมตัวกันของอนุภาคที่เป็นทรงกลม โดยที่ Hysteresis loop แบบ H1 นั้นจะเกิดกับรูพรุนที่มีขนาดกับรูปร่างที่เหมือนกัน (uniform size and shape) ในขณะที่แบบ H2 เป็นแบบขนาดและรูปร่างไม่สม่ำเสมอกัน (nonuniform size and shape)

สำหรับ hysteresis แบบ H3 และ H4 เกิดกับรูพรุนที่เกิดจากการรวมตัวกันของอนุภาคทำให้เกิดลักษณะแบบสลิต (slit shaped pore) กล่าวคืออนุภาคที่มีรูปร่างเป็นแผ่นหรือมีมุม เช่น ลูกบาศก์ เป็นต้น หากมีขนา ด และรูปร่างเหมือนกันจะเป็นแบบ H4 ในทางตรงกันข้าม ขนาดและรูปร่างต่างกันออกไปจะเป็นแบบ H3

1.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การเตรียมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ใช้ในการศึกษาในงานวิจัยนี้ ใช้วิธีการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียโดยการตรึงแบคทีเรียชนิด *Bacillus sp.* GY19 บนไคโตซานและสกัดด้วยตัวทำละลายตามวิธีของ Nichakorn และคณะ [4] การตรึงเชื้อแบคทีเรียบนไคโตซานช่วยเพิ่มความหนาแน่นของเซลล์และช่วยลดปัญหาจากการก่อโฟม โดยอาหารเลี้ยงเชื้อใช้กลีเซอรอลเหลือทิ้งและน้ำมันปาล์มเป็นตัวร่วมในการเป็นแหล่งของคาร์บอน ซึ่งเมื่อศึกษาสัดส่ วนระหว่างปริมาณของเซลล์แบคทีเรียบนไคโตซาน กลีเซอรอล และน้ำมันปาล์ม พบว่าสัดส่วนสารตั้งต้นที่ใช้เพื่อให้ได้ปริมาณการผลิตสารลดแรงตึงผิวมากที่สุดคือใช้ น้ำหนักเซลล์แบคทีเรียบนไคโตซาน 80 g/L, 10 % (v/v) ของกลีเซอรอล และ 1.25 % (v/v) ของน้ำมันปาล์ม และเมื่อนำสั ดส่วนดังกล่าวมาทำการสกัดด้วยตัวทำละลายผสมคลอโรฟอร์มกับเมทานอล 2:1 ได้สารลดแรงตึงผิวออกมาถึง 7.12 g/L โดยสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ได้นี้เป็นสารกลุ่มลิโพเพปไทด์ ชนิด surfactin ซึ่งมีมวลโมเลกุลเท่ากับ 1,036.34 g/mol

ในปี พ.ศ. 2548 Kirti และคณะ [18] ได้ทำการศึกษาการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในน้ำเสียด้วยเฟสของแข็ง โดยทำการพัฒนาวัสดุดูดซับถ่านกัมมันต์จากไม้ (wood-based activated carbon) เปรียบเทียบกับวัสดุดูดซับชนิดอื่น ๆ ได้แก่ ซีโอไลต์ อะลูมินากัมมันต์ และซิลิกาเจล พบว่า ถ่านกัมมันต์จากไม้เป็นวัสดุดูดซับชนิดเดียวที่สามารถดูดซับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ โดยที่ภาวะที่เหมาะสมในการดูดซับคือ pH 5-10 ที่อุณหภูมิ 40 °C ซึ่งให้ประสิทธิภาพในการดูดซับมากถึง 99.5 % และวัสดุดูดซับนี้สามารถใช้ซ้ำได้มากถึง 3 ซ้ำอย่างมีประสิทธิภาพ

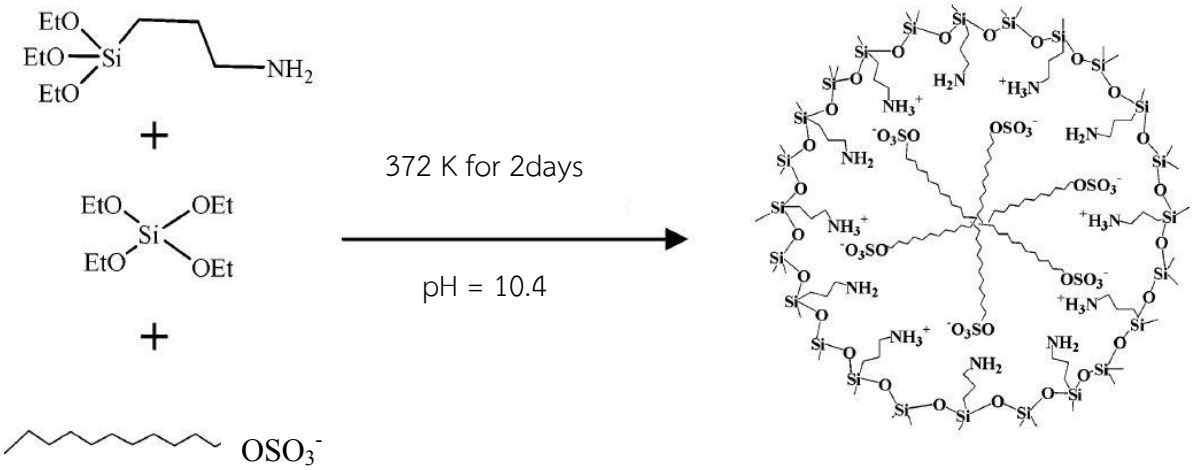
ในปี พ.ศ. 2553 Wang และคณะ [19] ได้ทำการศึกษาการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่มลิโพเพปไทด์ (i.e. surfactin และ fengycin) ที่ผลิตจากแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* ES-2 ด้วย แมคโครพอรัสเรซิน ชนิด X-5 ที่มีอัตราการดูดซับสูงและคงที่ เรซินชนิดนี้เป็นสารไม่มีขั้วและมีรูปร่างที่เหมาะสมกับสารกลุ่มลิโพเพปไทด์ โดยผู้วิจัยได้ใช้วิธีสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพแบบต่อเนื่องในลักษณะคอลัมน์ ซึ่งภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดคือ ใช้ความเข้มข้นของเรซิน 30 g/L, อัตราการไหล 0.5 BV/h, ใช้ 80 % เอทานอลเป็นสารชะ ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่มีลิโพเพปไทด์อยู่ถึง 79.5 % (i.e. surfactin 33.2 % และ fergycin 23.4 %) ซึ่งมีค่าเพิ่มขึ้นมากถึง 150 % เทียบกับเปอร์เซ็นต์ที่มีในน้ำหมักเริ่มต้น

ในปี พ.ศ. 2558 Sharma และคณะ [20] ได้ทำการศึกษาการแยกและพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจากแบคทีเรียกรดแลคติก (MRTL9) ที่มีในนมบัตเตอร์ โดยสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจาก MRTL9 นั้นสามารถลดค่าแรงตึงผิวได้ถึง 40.2 mN/m มีค่าความเข้มข้นวิกฤตของไมเซลล์เท่ากับ 2.25 mg/mL ซึ่งสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพนี้ ให้บริสุทธิ์ได้โดยใช้ซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโทกราฟี และพบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพนั้นคือไกลโคลิพิด

สำหรับงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการเตรียมซิลิกาที่ใช้ในงานวิจัยมีดังนี้

การสังเคราะห์ซิลิกาโดยใช้ cationic surfactant เป็นสารต้นแบบทำตามวิธีของ Boos และคณะ [21] โดยทำการสังเคราะห์ซิลิกาซึ่ง ใช้สารตั้งต้นเป็น TEOS และใช้ cationic surfactant ชนิด Cetyltrimethyl ammonium bromide (CTAB) เป็นสารต้นแบบ ใช้ อัตราส่วนโดยโมลในการสังเคราะห์ ของ TEOS : CTAB : H_2O : MeOH คือ 1 : 0.18 : 140 : 13 และใช้น้ำในรูป 0.1 M NaOH พบว่า ซิลิกาที่ได้มีลักษณะเป็นแผ่นบาง (Lamella) มีพื้นที่ผิวจำเพาะ 960 m^2/g มีขนาดรูพรุนประมาณ 39 Å แสดงให้เห็นว่าซิลิกาที่สังเคราะห์ได้เป็นเมโซพอรัสซิลิกา

การสังเคราะห์ซิลิกาโดยใช้ anionic surfactant เป็นสารต้นแบบ ทำตามวิธีของ Toshiyoki และคณะ [22] โดยทำการ สังเคราะห์เมโซพอรัสซิลิกา ซึ่งใช้ TEOS และ (3-aminopropyl)triethoxy silane (APTES) เป็นสารตั้งต้น และใช้ anionic surfactant ชนิด Sodium dodecyl sulfate (SDS) เป็นสารต้นแบบ โดยมีอัตราส่วนโดยโมลของสารที่ใช้ในการสังเคราะห์ ของ TEOS : APTES : SDS : H_2O : EtOH คือ 1 : 1 : 0.2 : 360 : 40 การนำ SDS มาใช้เป็นสารต้นแบบนั้นใช้ แนวคิด electrostatic charge-matching (S^-I^+ ; S^-=anionic surfactant, I^+=cationic silicate) ที่อาศัยแรงกระทำระหว่างประจุบวกของหมู่อะมิโนใน APTES ทำปฏิกิริยากับหมู่ที่ เป็นประจุลบของ SDS จากนั้นหมู่แอลคอกซีไซเลนจะเกิดปฏิกิริยาควบแน่นร่วมกับ TEOS เกิดเป็นโครงร่างซิลิกา (รูปที่ 1.12)



รูปที่ 1.12 การล้อมรอบสารต้นแบบของสายพอลิไซลอกเซนที่มีหมู่อะมิโนต่ ออยู่ ด้วยลักษณะแรงดึงดูดระหว่างประจุตรงข้ามกัน (counter ion)

ในส่วนของการนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพไปใช้เป็นสารต้นแบบในการสังเคราะห์ซิลิกานั้น งานวิจัยของ Vittorio และคณะ [23] ได้เสนอแนวทางการสังเคราะห์ซิลิกาโดยใช้สารลดแรงตึงผิวจากการหมักขยะอินทรีย์จากภาคครัวเรือนมาเป็นสารต้นแบบในการสังเคราะห์ โดยเขาพบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากการหมักขยะอินทรีย์มีโครงสร้างคล้าย anionic surfactant โดยมีหมู่คาร์บอกซิลิก (carboxylic group) และไฮดรอกซิล (hydroxyl group) อยู่ในโครงสร้าง เขาได้ทำการสังเคราะห์ซิลิกาโดยใช้ TEOS และ APTES เป็นสารตั้งต้น ใช้อัตราส่วนโดยโมลที่ใช้ในการสังเคราะห์ของ TEOS : APTES : MeOH คือ 1 : 0.15 : 7.7 และใช้สารลดแรงตึง ผิวชีวภาพปริมาตร 10 mL ต่อ TEOS ปริมาณ 1.86 mL โดยสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0-10 mg/L ผลการศึกษาพบว่า ซิลิกาที่สังเคราะห์ได้มีทั้ งชนิดเมโซพอรัสซิลิกาและ ไมโครพอรัสซิลิกา ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวที่ใช้ในการสังเคราะห์

จากงานวิจัยที่ผ่านมาจะเห็นได้ว่ายังไม่มีงานวิจัยใดที่สามารถใช้ซิลิกาเป็นวัสดุดูดซับในการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นไปที่การเตรียมซิ ลิกาที่มีความสามารถในการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่เกิดจากการย่อยสลายกลีเซอรอลของแบคทีเรีย *Bacillus sp.* GY19 และการประยุกต์ใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพดังกล่าวในการทำหน้าที่เป็นสารต้นแบบในการสังเคราะห์ซิลิกา เพื่อลดต้นทุนและเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับของเหลือทิ้งต่อไป

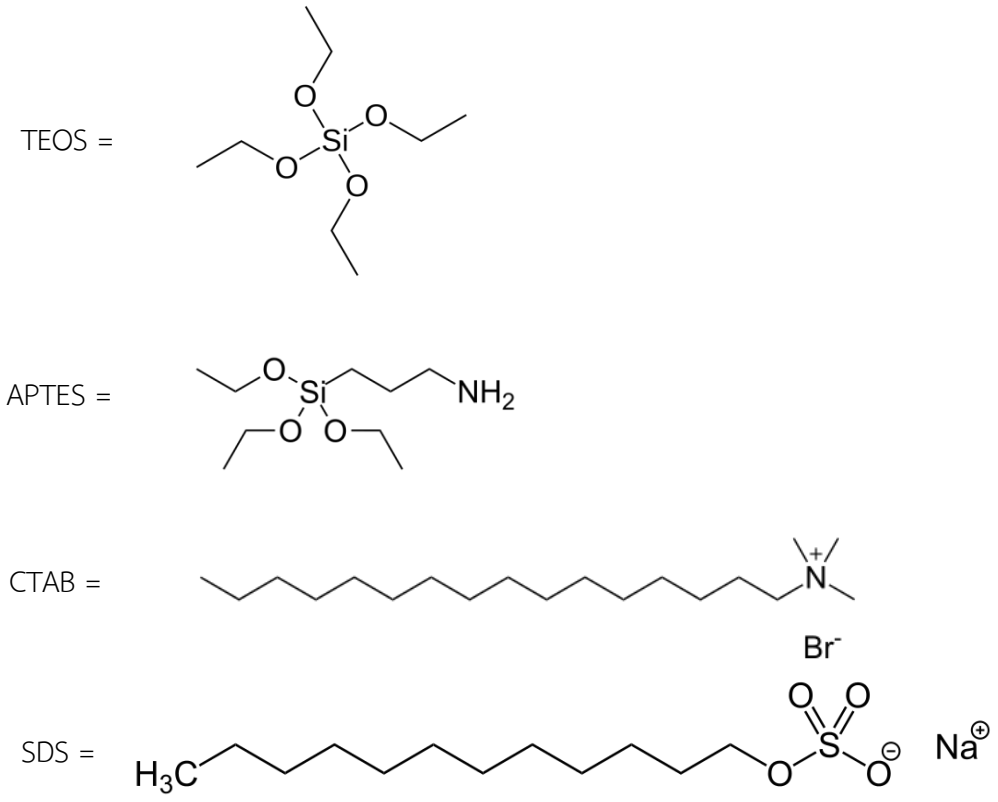
ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2
การทดลอง

2.1 สารเคมีและอุปกรณ์

2.1.1 สารเคมี

สารละลายที่ใช้ในการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ได้แก่ คลอโรฟอร์ม (AR grade, J.T.Baker) และเมทานอล (MeOH, AR grade, Merck) สารตั้งต้นในการสังเคราะห์ซิลิกา ได้แก่ เททระเอทิลออร์โทซิลิเกต (TEOS, 98 % Aldrich) , (3-อะมิโนโพรพิล) ไตรเอทอกซี่ไซเลน (APTES, Fluka) เฮกซะเดซิลแอมโมเนียมโบรไมด์ (CTAB, Fluka), โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (SDS, Fluka) โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH, CARLO ERBA) และเอทิลแอลกอฮอล์ (EtOH, AR grade, Merck) ตัวทำละลายที่ใช้ในการล้างสารต้นแบบ ได้แก่ แอซิโทไนไตรล์ (MeCN, Merck) และกรดไฮโดรคลอริก (37 % HCl, Fisher Chemicals) ใช้กรดไนตริก (HNO_3 65%, Merck) เป็นรีเอเจนต์ในการเตรียมสารละลายกรดสำหรับใช้ล้างตะกอน ใช้โพแทสเซียมโบรไมด์ (KBr, Merck) ในการเตรียมสารตัวอย่างสำหรับการตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันในซิลิกาด้วยเทคนิค อินฟราเรดสเปกโทร สโกปี และใช้น้ำขจัดไอออน (>18 $M\Omega/cm^3$) ตลอดการทดลองนี้



รูปที่ 2.1 สูตรโครงสร้างของรีเอเจนต์หลักที่ใช้ในการสังเคราะห์ซิลิกา

2.1.2 อุปกรณ์

เครื่องเทนซิโอมิเตอร์ (force tensiometer, KRUSS K100C) ในการหาค่าแรงตึงผิวของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ เครื่องระเหยสารแบบหมุน (rotary evaporator, BUCHI Rotavapor R-14) ในการระเหยตัวทำละลาย เครื่องฟูริเออร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์ (NICOLET 6700 FT-IR) ในการตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันในซิลิกา เครื่องไนโตรเจนแอดซอร์พโทมิเตอร์ (nitrogen adsorptometer, Belsorp mini II) ในการหาพื้นที่ผิว ขนาดรูพรุนและการกระจายขนาดรูพรุนของซิลิกา เครื่องเอ็กซ์เรย์ ดิฟแฟรกโทมิเตอร์ (Rigaku) ในการตรวจสอบการจัดเรียงโครงสร้างของซิลิกา ตู้อบ (Memmert) ในการทำให้เกิดเป็นเจล (gelation) และอบแห้ง เตาเผา (CARBOLITE RHF 1600) ในการเผาสารต้นแบบ เครื่องเขย่าแบบหมุนวน (orbital shaker, GFL 3005) ในการศึกษาการสกัดสารลดแรงตึงผิวชี วภาพด้วยซิลิกาในรูปแบบแบทช์ เครื่องทำน้ำขจัดไอออน (MiliiQ, Progard TS2) ใช้ในการผลิตน้ำขจัดไอออน

2.2 วิธีการทดลอง

2.2.1 การเตรียมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

2.2.1.1 การเตรียมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยใช้วิธีการตกกรดและการสกัดด้วยตัวทำละลาย

การเตรียมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย ใช้วิธีการตกกรดและ การ สกัดด้วยตัวทำละลาย ทำ ตามวิธีของ Nichakorn และคณะ [6] ซึ่งมีวิธีการดังนี้ : นำอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียชนิด *Bacillus sp*. GY19 มาปั่นเหวี่ยงที่ 8,000 rpm เป็นเวลา 40 นาที เพื่อแยกเซลล์ออก แล้วจึงนำ culture medium ที่ได้มาทำการตกกรดที่ pH 2 โดยใช้ 6 M HCl จากนั้นนำไปแช่ไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 1 คืน แล้วจึงนำมาแยกชั้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพออกจากชั้นของกรดไขมันด้วยกรวยแยก ไขเอาชั้นของสารลดแรงตึงผิว (ชั้นล่าง) ออกใส่ในบีกเกอร์ แล้วนำมาทำการสกัดกับตัวทำละลายผสมคลอโรฟอร์ม-เมทานอล (2:1 v/v) โดยมีอัตราส่วนของตัวทำละลายผสมต่อสารละลายสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็น 2:1 นำไปคนเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาแยกชั้นในกรวยแยก เก็บชั้นอินทรีย์ (คลอโรฟอร์มซึ่งคือชั้นล่าง) แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยส ารแบบหมุน (rotary evaporator) ชั่งน้ำหนักสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ได้

2.2.1.2 การหาค่าความเข้มข้นวิกฤตของไมเซลล์ (critical micelle concentration, CMC)

นำสารลดแรงตึงผิวที่เตรียมได้ในขั้นตอน 2.2.1.1 มาเตรียมเป็น stock solution โดยใช้ 0.1 M NaOH เป็นตัวทำละลาย จากนั้นเตรียมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้ 2,000, 1,500, 1,200, 900, 600, 450, 300, 150, 100, 50, 30, 10 และ 1 mg/L แล้วนำไปวัดหาค่าแรงตึงผิว นำผลที่ได้มาเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระหว่างความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในรูปของลอการิ ทึม (mg/L) กับค่าแรงตึงผิว (mN/m) เพื่อนำไปหาค่า CMC ต่อไป

2.2.2 การสังเคราะห์ซิลิกา

ในงานวิจัยนี้ ได้ทำการสังเคราะห์ซิลิกาโดยมีชนิดของสารตั้งต้นซิลิกา แบ่งเป็นสารตั้งต้นซิลิกาชนิดเดียว ได้แก่ เททระเอทิลออร์โทซิลิเกต (TEOS) และสารตั้งต้นซิลิกา 2 ชนิด ได้แก่ TEOS และ (3-คลอโรโพรพิล) ไตรเอทอกซี่ไซเลน (APTES) ใช้สารต้นแบบ (template) เป็นเฮกซะเดซิลแอมโมเนียมโบรไมด์ (CTAB) ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวชนิดแคตไอออน หรือโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (SDS) ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวชนิดแอนไอออน และมีการนำซิลิกาทุกชนิดที่ได้จากการสังเคราะห์ (as-synthesized silica) ไปทำการกำจัดสารต้นแบบออกด้วยวิธีการเผาที่อุณหภูมิสูง (calcination) เพื่อให้ได้เป็นซิลิกาที่ผ่านการเผาที่อุณหภูมิสูง (calcined silica) โดยที่รายละเอียดวิธีการสังเคราะห์ดังนี้

2.2.2.1 การสังเคราะห์ซิลิกาที่ใช้ CTAB เป็นสารต้นแบบ

การสังเคราะห์ซิลิกาที่ใช้ CTAB เป็นสารต้นแบบ ในงานวิจัยนี้ ทำตามวิธีการสังเคราะห์ของ Boos และคณะ [18] โดยมีสัดส่วนโดยโมลขององค์ประกอบของสารที่ใช้ในการสังเคราะห์ คือ 1 TEOS : 0.18 CTAB : 140 H_2O : 13 EtOH ซึ่งมีวิธีการสังเคราะห์ดังนี้ เริ่มจากละลาย CTAB ใน 0.1 M NaOH ที่อุณหูมิ 60 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วเติม EtOH และ TEOS ตามลำดับ คนต่ออีก 4 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงปล่อยให้อุณหภูมิลดลงจนถึงอุณหภูมิห้องและคนต่ออีกเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้ปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์ จากนั้นจึงทำการกรองซิลิกาที่ได้ด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 และล้างด้วยน้ำขจัดไอออนปริมาตร 100 mL 2 ครั้ง เพื่อปรับ pH ของซิลิกาให้เป็นกลาง แล้วนำซิลิกาไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 110 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เรียกซิลิกาชนิดนี้ว่า GC

ทำการสังเคราะห์ซิลิกาอีกชนิดด้วยวิธีเดียวกันแต่มีการ เติม APTES ลงไปพร้อมกับ TEOS ในอัตราส่วนโดยโมลของ APTES : TEOS เท่ากับ 1:1 ซึ่ง APTES นี้ทำหน้าที่เป็น co-precursor เรียกซิลิกาชนิดนี้ว่า GCA

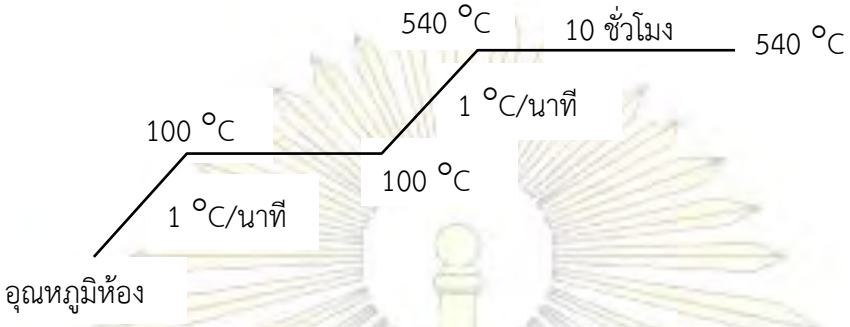
2.2.2.2 การสังเคราะห์ซิลิกาที่ใช้ SDS เป็นสารต้นแบบ

การสังเคราะห์ซิลิกาที่ใช้ SDS เป็นสารต้นแบบในงานวิจัยนี้ ทำตามวิธีการสังเคราะห์ของ Toshiyoki และคณะ [19] โดยมีสัดส่วนโดยโมลขององค์ประกอบของสารที่ใช้ในการสังเคราะห์ คือ 1 TEOS : 1 APTES : 0.2 SDS : 360 H_2O : 40 EtOH ซึ่งมีวิธีการสังเคราะห์ดังนี้ เริ่มจากการละลาย SDS ในน้ำที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 30 นาที แล้วเติม EtOH และ TEOS ลงไปตามลำดับ คนต่อที่อุณหภูมินี้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำสารเข้าตู้อบเป็นเวลา 2 วัน เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ กรองซิลิกาด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 แล้วล้างซิลิกาด้วย 0.001 M HNO_3 ปริมาตร 50 mL 1 ครั้ง และล้างด้วยน้ำขจัดไอออนปริมาตร 50 mL 2 ครั้ง เพื่อปรับ pH ของซิลิกาให้เป็นกลาง หลังจากนั้นนำซิลิกาไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 110 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เรียกซิลิกาชนิดนี้ว่า GS

ทำการสังเคราะห์ซิลิกาอีกชนิดด้วยวิธีเดียวกันแต่มีการ เติม APTES ลงไปพร้อมกับ TEOS ในอัตราส่วนโดยโมลของ APTES : TEOS เท่ากับ 1:1 ซึ่ง APTES นี้ทำหน้าที่เป็น co-precursor เรียกซิลิกาชนิดนี้ว่า GSA

2.2.2.3 การกำจัดสารต้นแบบออกจากซิลิกาด้วยวิธีการเผาที่อุณหภูมิสูง (Calcination)

นำซิลิกาที่สังเคราะห์ได้ ใส่ลงในถ้วยครูซิเบิลสำหรับเผาโดยต้องทราบน้ำหนักที่แน่นอนของซิลิกา แล้วทำการเผาซิลิกาตามรูปแบบการเพิ่มอุณหภูมิดังรูปที่ 2.1 เมื่อการเผาเสร็จสิ้น ชั่งน้ำหนักของสารที่เหลือแล้วทำการเปรียบเทียบกับค่าเริ่มต้น เพื่อนำไปคำนวณหาปริมาณสารอินทรีย์ที่มีในซิลิกาต่อไป



รูปที่ 2.2 รูปแบบการเพิ่มอุณหภูมิของการเผาซิลิกาในเตาเผา

การเตรียมซิลิกาด้วยวิธีการต่าง ๆ ข้างต้น สามารถสรุปเป็นชนิดของซิลิกาได้ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ชนิดของซิลิกาที่สังเคราะห์ในงานวิจัยนี้

สารตั้งต้น	สารต้นแบบ	As-synthesized หรือ Calcined silica	ชื่อของซิลิกา
TEOS	CTAB	As-synthesized silica	GC
		Calcined silica	GCc
	SDS	As-synthesized silica	GS
		Calcined silica	GSc
TEOS + APTES	CTAB	As-synthesized silica	GCA
		Calcined silica	GCAc
	SDS	As-synthesized silica	GSA
		Calcined silica	GSAc

เนื่องจาก APTES เป็นแหล่งของซิลิกาที่มีไฮโดรคาร์บอนโซ่ตรงซึ่งประกอบด้วยคาร์บอน 3 อะตอม และมีหมู่อะมิโนเป็นหมู่ฟังก์ชัน ในการกำจัดสารต้นแบบด้วยการเผาที่อุณหภูมิสูงจะทำให้โซ่ไฮโดรคาร์บอนและหมู่อะมิโนนี้ถูกกำจัดไปด้วย [24] ดังนั้นเพื่อที่จะศึกษาผลของการมีโซ่ไฮโดรคาร์บอนและหมู่อะมิโนในซิลิกาต่อประสิทธิภาพในการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ผู้วิจัยจึงได้นำซิลิกา GSA มาทำการกำจัดสารต้นแบบออกโดยใช้วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายตามวิธีของ Toshiyoki และคณะ [19] ซึ่งมีวิธีการดังต่อไปนี้ เตรียมสารละลายผสมของกรด HCl กับ MeCN โดยละลายกรด HCl เข้มข้น 10.42 g ใน 100 mL MeCN จากนั้นเติมซิลิกา 1.000 g ลงในสารละลายดังกล่าว คนด้วยเครื่องกวนสารละลายเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นทำการกรองซิลิกาแล้วล้างด้วย 0.001 NaOH ปริมาตร 50 mL 1 ครั้ง และน้ำขจัดไอออน ปริมาตร 50 mL 2 ครั้ง เพื่อปรับ pH ของซิลิกาให้เป็นกลาง เรียกซิลิกาชนิดนี้ว่า GSAae

2.2.2.4 การศึกษาสมบัติทางกายภาพของซิลิกา

1. การตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันในซิลิกา

การตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันในซิลิกา ทำโดยใช้เทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (IR spectroscopy) โดยนำซิลิกามาบดรวมกับ KBr แล้ววัดค่าการส่องผ่านในช่วง 4000-400 cm^{-1} ด้วยเครื่องฟูริเออร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์ (FT-IR spectrometer)

2. การศึกษาลักษณะความเป็นผลึกของซิลิกา

การศึกษาลักษณะความเป็นผลึกของซิลิกาโดยใช้เทคนิค การเลี้ยวเบนรังสีเอก ซ์ (X-ray powder diffractometry, XRD) ได้รับความเอื้อเฟื้อในการวิเคราะห์จากภาควิชาเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยมีวิธีการดังนี้

นำซิลิกาตัวอย่างอัดใส่แผ่นกระจกแล้วนำไปสแกนค่าการเลี้ยวเบนตั้งแต่ 1.5° ถึง 10° โดยใช้ความเร็วรอบในการแสกนคือ 1°/นาที

3. การหาพื้นที่ผิว ขนาดรูพรุนและการกระจายรูพรุนของซิลิกา

การหาพื้นที่ผิว ขนาดรูพรุนและการกระจายรูพรุนของซิลิกาโดยใช้เทคนิคการดูดซับไนโตรเจน (N_2 sorption analysis) ได้รับความเอื้อเฟื้อจากภาควิชาเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยมีวิธีการดังนี้

ทำการชั่งสารตัวอย่าง 0.0040 g มาศึกษาการดูดซับไนโตรเจนที่ความดั นสัมพัทธ์ P/P_0 ตั้งแต่ 0 ถึง 1 kPa แล้วนำผลที่ได้ไปคำนวณหาพื้นที่ผิวของซิลิกาจากสมการ Brunauer-Emmett-Teller (BET) และหาขนาดของรูพรุนของซิลิกาจากสมการ Barret-Joyner-Hakenda (BJH)

2.2.3 การสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยซิลิกา

2.2.3.1 การหาชนิดของซิลิกาที่เหมาะสมในการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

ปิเปตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเข้มข้น 50 mg/L 20 mL ใส่ลงในขวดสกัดที่มีซิลิกาอยู่ 0.2000 g แล้วนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าแบบหมุนวนที่ความเร็วรอบ 200 rpm เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นทำการแยกซิลิกาออกจากสารละลายด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง โดยทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 4,000 rpm เป็นเวลา 15 นาที นำสารละลายไปวัดหาค่าแรงตึงผิวที่ได้หลังจากสกัด ทำการทดลองซ้ำอีก 3 ครั้ง

2.2.3.2 การหาความสามารถในการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของซิลิกา

ทำการทดลองในทำนองเดียวกันกับข้อ 2.2.3.1 แต่ใช้ปริมาณของซิลิกาเป็น 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.5 และ 2.0 g ตามลำดับ และทำการทดลองซ้ำอีก 2 ครั้ง

2.2.3.3 ผลของเวลาต่อความสามารถในการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของซิลิกา

ทำการทดลองในทำนองเดียวกันกับข้อ 2.2.3.1 แต่ใช้ปริมาณซิลิกาเป็น 1.0 g และใช้เวลาในการสกัดเป็น 30 นาที, 1 ชั่วโมง, 3 ชั่วโมง และ 1 วัน ตามลำดับ และทำการทดลองซ้ำอีก 2 ครั้ง

2.2.4 การสังเคราะห์ซิลิกาโดยใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นสารต้นแบบ

จากการที่สารลดแรงตึงผิวชีวภาพสามารถจัดเรียงตัวในลักษณะที่เป็นไมเซลล์ได้ จึงน่าจะใช้เป็นสารต้นแบบในการสังเคราะห์ซิลิกาได้เช่นกัน ดังนั้นในงานวิจัยจึงได้นำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่เตรียมได้ ซึ่งเป็นสาร

ลดแรงตึงผิวชนิด anionic surfactant มาทำการสังเคราะห์ตามวิธีของ Toshiyoki และคณะ [22] และ Vittorio และคณะ [23] โดยรายละเอียดมีดังนี้

2.2.4.1 การสังเคราะห์ซิลิกาที่ใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นสารต้นแบบตามวิธีของ Toshiyoki และคณะ

ชั่งสารละลายสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเข้มข้น 450 mg/L มา 32.4 g เติมลงในขวดสังเคราะห์ ปรับ pH จนถึง 5 ด้วย HCl 0.1 M และให้ความร้อนแก่สารละลายจนถึง 60 °C คนสารละลายที่อุณหภูมินี้เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเติมเอทานอล (11.6 mL), TEOS (1.144 mL) และ APTES (1.17 mL) ลงในสารละลาย คนที่อุณหภูมินี้ต่ออีกเป็นเวลา 1 วัน นำไปอบในเตาอบที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 2 วัน แล้วทำการกรองสารที่ได้และล้างด้วยน้ำขจัดไอออน 50 mL 2 ครั้ง ทำให้แห้งด้วยการอบแล้วนำไปเผาที่อุณหภูมิสูงเพื่อกำจัดสารต้นแบบออก จากนั้นนำซิลกาที่ได้ไปพิสูจน์เอกลักษณ์ต่อไป เรียกซิลิกาชนิดนี้ว่า GBST

2.2.4.2 การสังเคราะห์ซิลิกาที่ใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นสารต้นแบบตามวิธีของ Vittorio และคณะ

ปิเปตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเข้มข้น 450 mg/L ปริมาตร 10 mL ใส่ลงในขวดสังเคราะห์ ปรับ pH จนถึง 5 ด้วย HCl 0.1 M และให้ความร้อนแก่สารละลายจนถึง 65 °C คนที่อุณหภูมินี้ 30 นาที จากนั้นเติมสารละลายผสมเอทานอล , TEOS และ APTES (i.e. เอทานอล 2.5 mL+ TEOS 1.86 mL + APTES 0.29 mL) ลงในสารละลาย คนที่อุณหภูมินี้ต่ออีกเป็นเวลา 1 วัน จากนั้นทำการกรองสารที่ได้ ล้างด้วยเอทานอล 20 mL และน้ำขจัดไอออน 20 mL ทำให้แห้งด้วยการอบแล้วนำไปเผาที่อุณหภูมิสูงเพื่อกำจัดสารต้นแบบออก จากนั้นนำซิลกาที่ได้ไปพิสูจน์เอกลักษณ์ต่อไป เรียกซิลิกาชนิดนี้ว่า GBSV

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

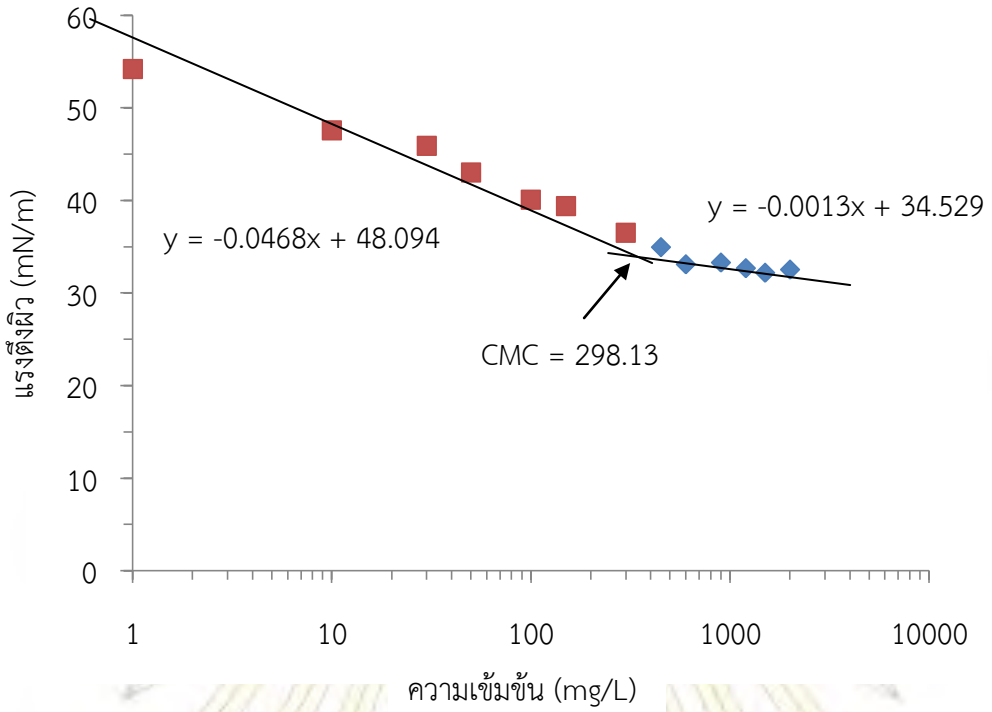
บทที่ 3
ผลการทดลองและอภิปรายผล

3.1 การเตรียมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

การเตรียมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียชนิด *Bacillus sp.* GY19 (culture medium) จำนวน 1 ลิตร ด้วยวิธีการตกกรดและสกัดด้วยตัวทำละลาย ได้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาลเข้ม มีกลิ่นฉุน มีน้ำหนัก 0.4730 g และเมื่อเตรียมเป็น stock solution เข้มข้น 4730 mg/L ในสารละลาย 0.1 M NaOH แล้วนำ stock solution นี้ไปเตรียมเป็นสารลดแรงตึงผิวชีวภ าพความเข้มข้นต่าง ๆ ตั้งแต่ 1 ถึง 2,000 mg/L จากนั้นนำไปวัดค่าแรงตึงผิว ได้ผลแสดงดังตารางที่ 3.1 ซึ่งเมื่อนำค่าแรงตึงผิวที่ได้ ไปเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในรูปของลอการิทึม กับค่าแรงตึงผิว เพื่อวิเคราะห์หาค่าความเข้ม ข้นวิกฤตของไมเซลล์ (critical micelle concentration, CMC) ตามวิธีการหาจุดตัดของเส้นตรง [6] พบว่าค่า CMC ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่เตรียมได้นี้มีค่า 298.13 mg/L (รูปที่ 3.1)

ตารางที่ 3.1 ค่าแรงตึงผิวของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (mg/L)	ค่าแรงตึงผิว (mN/m)
2,000	32.92
1,500	32.18
1,200	32.67
900	33.28
600	33.09
450	34.94
300	36.52
150	39.37
100	40.08
50	43.03
30	45.90
10	47.54
1	55.63



รูปที่ 3.1 ความสัมพันธ์ระหว่างความ เข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ สมการที่ใช้ในการคำนวณหาจุดตัดของเส้นตรงเพื่อใช้ในการหาค่า CMC และจุด CMC

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2 การสังเคราะห์ซิลิกา

การสังเคราะห์ซิลิกาในงานวิจัยนี้ได้ทำการเตรียมซิลิกาทั้งหมด 8 ชนิด ดังแสดงในตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 ชนิดของซิลิกาที่สังเคราะห์ในงานวิจัยนี้

สารตั้งต้น	สารต้นแบบ	As-synthesized or Calcined silica	ชนิดของซิลิกา
TEOS	CTAB	As-synthesized silica	GC
		Calcined silica	GCc
	SDS	As-synthesized silica	GS
		Calcined silica	GSc
TEOS + APTES	CTAB	As-synthesized silica	GCA
		Calcined silica	GCAc
	SDS	As-synthesized silica	GSA
		Calcined silica	GSAc

ซึ่งผลการสังเคราะห์พบว่า ซิลิกา GC และซิลิกา GCA ที่เตรียมโดยใช้ CTAB เป็นสารต้นแบบ สามารถกรองได้โดยง่ายด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 โดยสารที่ได้จากการสังเคราะห์มีลักษณะเป็นสารแขวนลอย ซึ่งเมื่อตั้งทิ้งไว้จะเห็นอนุภาคสีขาวของซิลิกาได้อย่างชัดเจน และเมื่อนำไปกรองและอบแห้ง จะให้ผลิตภัณฑ์เป็นผงสีขาวออกมา

ในขณะที่ซิลิกา GS ที่เตรียมโดยใช้ SDS เป็นสารต้นแบบนั้น กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 5 ได้ค่อนข้างยาก และในบางครั้งไม่สามารถใช้วิธีการกรองได้ ดังนั้นการแยกอนุภาคซิลิกาออกมาจึงต้องใช้การปั่นเหวี่ยงแทน ซึ่งเมื่อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 2 วัน ก็ยังไม่เห็นการตกตะกอนของอนุภาคซิลิกา แต่เห็นสารละลายมีความขุ่น แต่เมื่อนำไปกรองและอบแห้งจะให้ผลิตภัณฑ์เป็นเจลแข็งขุ่น และเมื่อนำไปบดจะได้ผงสีขาวออกมา

ในทางตรงกันข้าม ซิลิกา GSA ที่เตรียมโดยใช้ SDS เป็นสารต้นแบบเช่นกัน แต่ใช้สารตั้งต้นเป็น TEOS และ APTES นั้น สามารถกรองได้โดยง่าย และซิลิกาที่ได้มีความละเอียดมากกว่าซิลิกา GC และ GCA

ทั้งนี้ความยากง่ายในการกรองซิลิกา อาจเป็นผลมาจากขนาดอนุภาคของซิลิกา ซึ่งจากผลการสังเคราะห์คาดว่า ซิลิกา GC, GCA และ GSA น่าจะมีขนาดอนุภาคใหญ่กว่าซิลิกา GS เนื่องจากสามารถกรองผ่า นกระดาษกรองเบอร์ 5 ได้โดยง่าย ข้อสันนิษฐานนี้อาจยืนยันได้โดยอาศัยเทคนิค กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope, SEM) หรือเทคนิคการเลี้ยวเบนของลำแสงเลเซอร์ (laser diffraction) ที่ใช้ในการหาขนาดของอนุภาคต่อไป

3.2.1 การหาปริมาณสารอินทรีย์ที่มีอยู่ในซิลิกาโดยใช้วิธีการเผาที่อุณหภูมิสูง (calcination)

ปริมาณสารอินทรีย์ทั้งหมดในซิลิกาชนิดต่าง ๆ สามารถหาได้โดยการเทียบน้ำหนักก่อนเผากับหลังเผา จากนั้นนำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับค่าทางทฤษฎีที่คำนวณจากอัตราส่วนขององค์ประกอบที่ใช้ในการสังเคราะห์ ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 3.3 (วิธีการคำนวณอยู่ในภาคผนวก)

ตารางที่ 3.3 ปริมาณสารอินทรีย์ที่มีอยู่ในซิลิกาที่หาได้จากน้ำหนักสารที่หายไปหลังจากผ่านการเผาที่อุณหภูมิสูง และปริมาณสารอินทรีย์ที่มีอยู่ในซิลิกาทางทฤษฎีคำนวณได้จากองค์ประกอบที่ใช้ในการสังเคราะห์

สารตั้งต้น	สารต้นแบบ	ชนิดของซิลิกา	ปริมาณสารอินทรีย์ที่มีอยู่ในซิลิกา (%)		ผลต่าง (%)*
			จากการคำนวณทางทฤษฎี	จากการทดลอง	
TEOS	CTAB	GC	45.72	47.09	+2.99
	SDS	GS	46.68	14.23	-69.52
TEOS+APTES	CTAB	GCA	49.21	24.02	-51.19
	SDS	GSA	49.78	43.94	-11.73

* ผลต่าง= $\frac{\text{ค่าที่ได้จากการทดลอง-ค่าที่ได้จากทฤษฎี}}{\text{ค่าที่ได้จากทฤษฎี}} \times 100\ \%$

จากตารางที่ 3.3 จะเห็นได้ว่าค่าปริมาณสารอินทรีย์ที่มีอยู่ในซิลิกาที่หาได้ของซิลิกาทุกชนิดยกเว้นซิลิกา GC มีค่าน้อยกว่าค่าที่คำนวณได้ในทางทฤษฎี ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากการที่สารต้นแบบไม่สามารถเข้าไปอยู่ในโครงสร้างของซิลิกาได้ทั้งหมด โดยมีปริมาณบางส่วนเหลืออยู่ในสารละลาย โดยเฉพาะในกรณีของซิลิกา GS และซิลิกา GCA ที่ได้รับอิทธิพลจากแรงผลักทางไฟฟ้าระหว่างสารตั้งต้นและสารต้นแบบที่เป็นไอออนชนิดเดียวกันนั้น ทำให้สารตั้งต้นซิลิกาไม่สามารถจัดเรียงตัวในลักษณะที่ล้อมรอบสารต้นแบบได้ จึงทำให้โอกาสในการสูญเสียสารต้นแบบไปในระหว่างการสังเคราะห์เพิ่มมากขึ้น นอกจากนั้นสารต้นแบบบางส่วนอาจหลุดออกมาในขั้นตอนการกรองและล้างซิลิกา เนื่องจากสังเกตเห็นการเกิดฟองขึ้นในขั้นตอนเหล่านี้

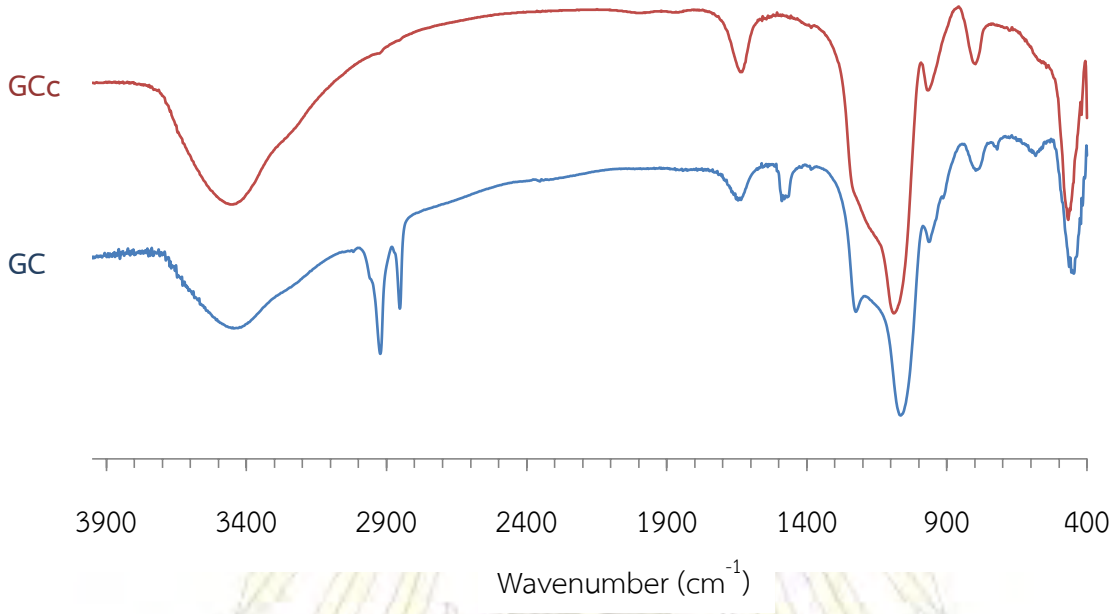
ข้อสันนิษฐานดังกล่าวอาจยืนยันได้โดยอาศัยวิธี ion chromatography ที่ใช้หาปริมาณสารต้นแบบในสารละลาย หรือการหาปริมาณสารอินทรีย์ที่มีในซิลิกาด้วยเทคนิค TGA-MS เป็นต้น

ส่วนในกรณีของซิลิกา GC ที่มีปริมาณสารอินทรีย์ที่ได้จากการทดลองมากกว่าค่าทางทฤษฎีอยู่เล็กน้อยนั้น อาจเป็นผลมาจากสมบัติในการเป็นสารดูดความชื้นได้ดีของซิลิกานั่นเอง

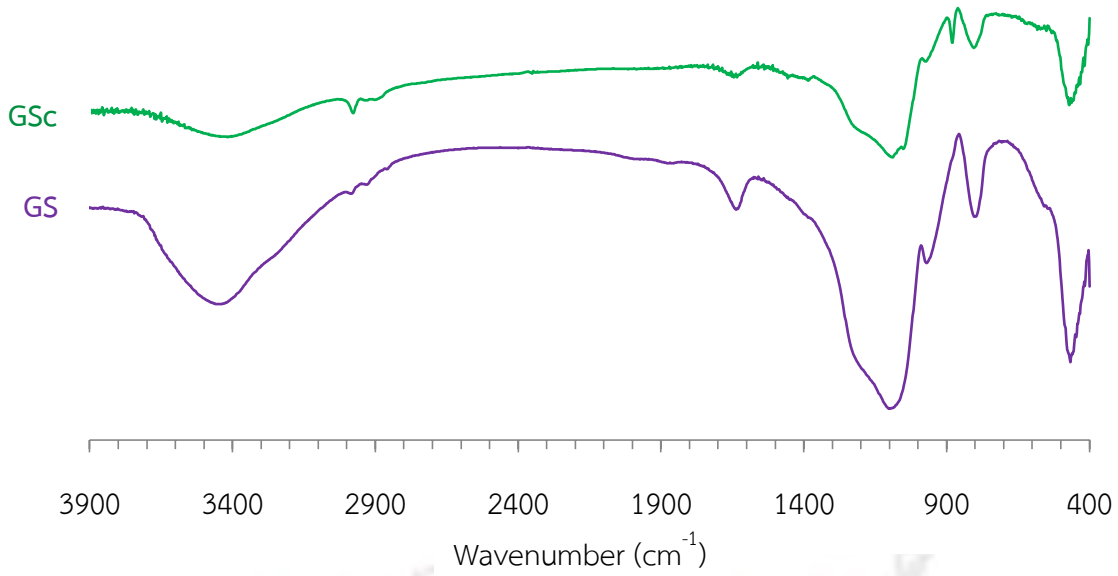
ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2.2 การตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันในซิลิกา

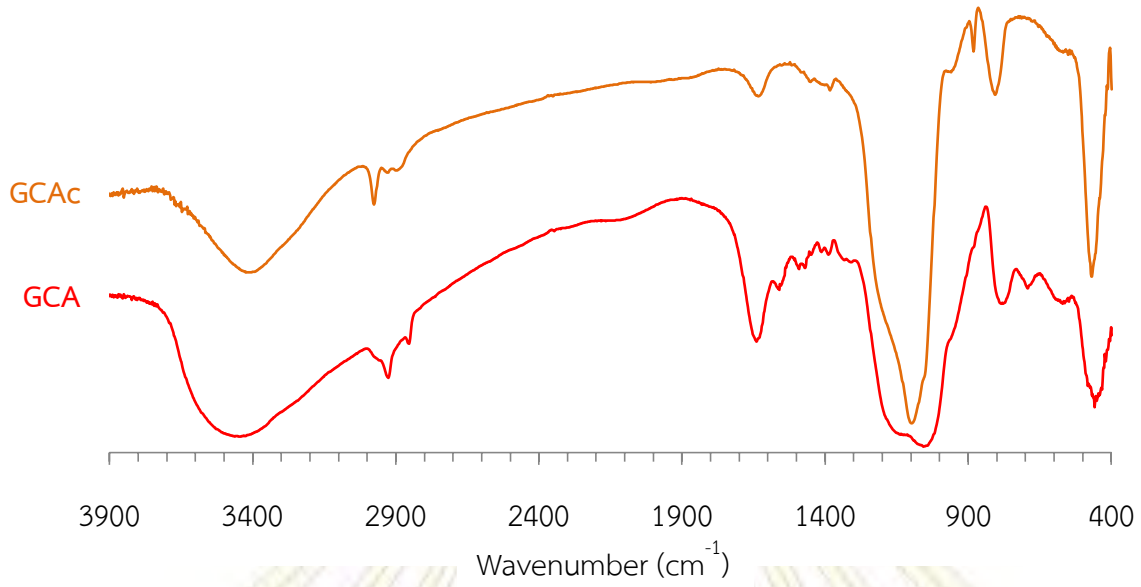
การศึกษาหมู่ฟังก์ชันของซิลิกาแต่ละชนิดด้วยเทคนิค IR ได้ผลดังต่อไปนี้



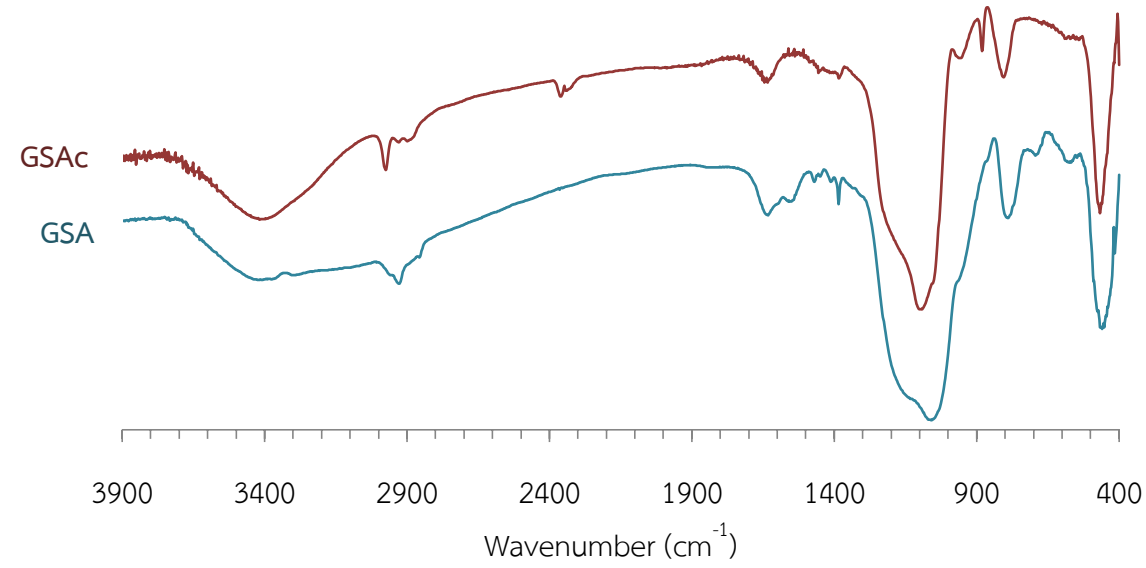
รูปที่ 3.2 IR สเปกตรัมของซิลิกา GC และ GCc



รูปที่ 3.3 IR สเปกตรัมของซิลิกา GS และ GSc



รูปที่ 3.4 IR สเปกตรัมของซิลิกา GCA และ GCAc



รูปที่ 3.5 IR สเปกตรัมของซิลิกา GSA และ GSAc

จาก IR สเปกตรัมของซิลิกาทุกชนิดทั้งที่เป็น As-synthesized silica และ Calcined silica ปรากฏแถบที่แสดงลักษณะเฉพาะของซิลิกา ได้แก่ แถบที่ความยาวคลื่นประมาณ 3450 cm^{-1} แสดงการสั่นของ O-H stretching ของหมู่ซิลานอล (R-OH) แถบที่ความยาวคลื่นประมาณ 1,100 cm^{-1} , 820 cm^{-1} และ 450 cm^{-1} แสดงการสั่นของ Si-O-Si bending, asymmetric Si-O-Si stretching และ symmetric Si-O-Si stretching ของหมู่ไซลอกเซนตามลำดับ รวมทั้งส่วนแถบที่ความยาวคลื่น 950 cm^{-1} แสดงการสั่นของ Si-OH bending

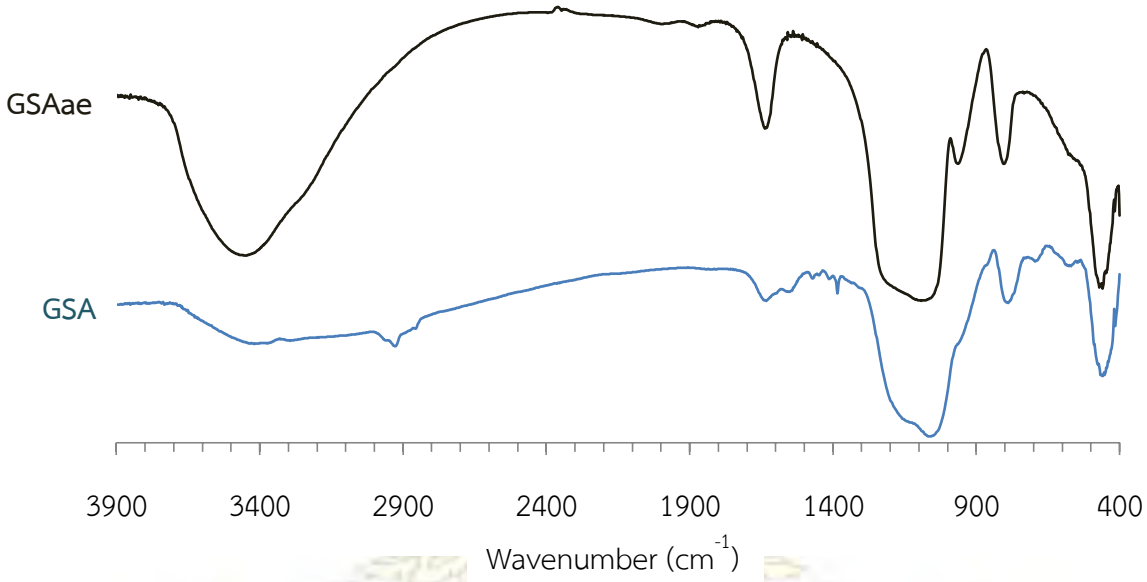
กรณีของซิลิกาที่สังเคราะห์โดยมี APTES เป็น co-precursor ได้แก่ GCA และ GSA จะปรากฏแถบที่ประมาณ 1,500 cm^{-1} ด้วย ซึ่งเป็นการสั่นของ N-H bending ของหมู่อะมิโนของ APTES และเมื่อนำซิลิกา

ดังกล่าวไปเผาที่อุณหภูมิสูงแล้วพบว่าแถบการสั่นนี้หายไป ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการที่หมู่อะมิโน หรือ -R-NH_2 ของ APTES ในโครงสร้างของซิลิกามีการสลายตัวไปแล้ว หรือหมู่อะมิโนอาจทำปฏิกิริยากลายเป็นสารอย่างอื่นแทน

นอกจากนั้น ยังพบแถบที่ความยาวคลื่น 2975 cm^{-1} ซึ่งแสดงถึงการสั่นของ C-H stretching ของสารต้นแบบที่เหลืออยู่ในซิลิกาทุกชนิดยกเว้น GCc อีกด้วย

ส่วนแถบที่ความยาวคลื่นประมาณ 1650 cm^{-1} นั้นแสดงถึงการสั่นของโมเลกุลของน้ำที่อาจถูกซิลิกาดูดซับไว้

ในกรณีของซิลิกา GSAae ซึ่งเป็นซิลิกาที่เตรียมจากการล้างสารต้นแบบออกด้วยตัวทำละลายกรดของซิลิกา GSA ก็ให้ผลเช่นเดียวกัน ดังแสดงในรูปที่ 3.6

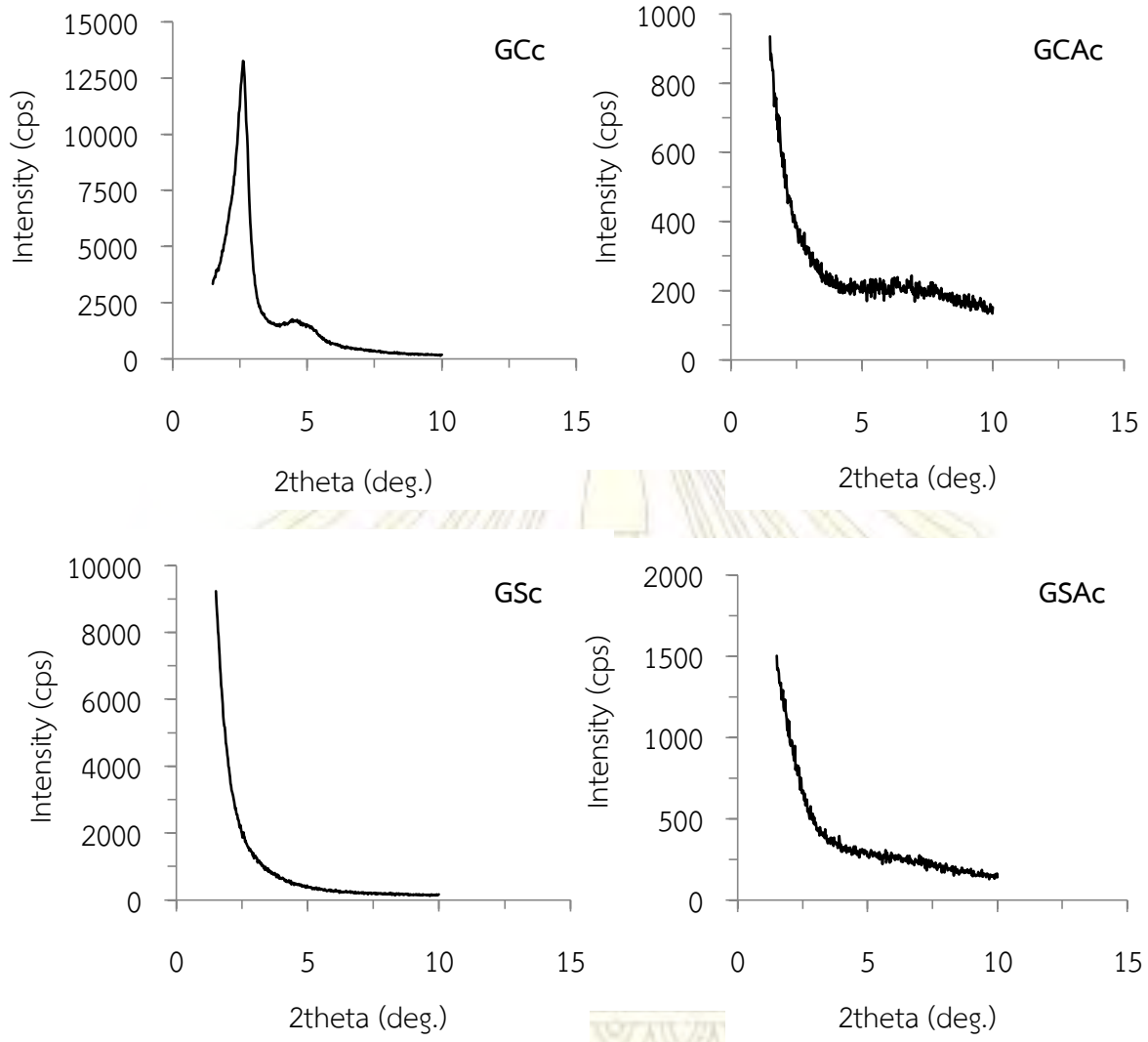


รูปที่ 3.6 IR สเปกตรัมของซิลิกา GSA และ GSAae

3.3.3 การศึกษาลักษณะความเป็นผลึกของซิลิกา

การศึกษาลักษณะความเป็นผลึกของซิลิกา ที่ผ่านการเผาที่อุณหภูมิสูง (calcined silica) โดยใช้เทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ ได้รูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (x-ray diffraction patterns) แสดงดังรูปที่ 3.2

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



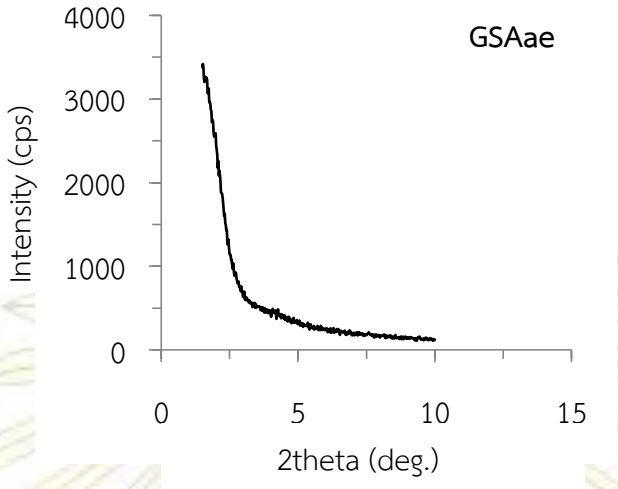
รูปที่ 3.7 รูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ของซิลิกาชนิดต่าง ๆ ที่ผ่านการเผาที่อุณหภูมิสูง

จากรูปที่ 3.7 จะเห็นได้ว่ามีเพียงซิลิกา GCc เท่านั้นที่มีการจัดเรียงโครงสร้างอย่างเป็นระเบียบ โดยปรากฏพีคที่เห็นได้อย่างเด่นชัดที่ 2θ เท่ากับ 2.54 แสดงถึงระนาบ d_{100} ของซิลิกา ในขณะที่ซิลิกาชนิดอื่น ๆ มีโครงสร้างที่มีลักษณะเป็นอสัณฐาน

ตารางที่ 3.4 ระยะระหว่างระนาบ (d) ของซิลิกาชนิด GCc

2θ	d (Å)
2.54	3.48
4.66	1.90

อนึ่งในกรณีของซิลิกาชนิด GSAae พบว่ามีโครงสร้างที่มีลักษณะเป็นอสัณฐานเช่นเดียวกัน เนื่องจากไม่มีพีคปรากฏในรูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (รูปที่ 3.8)



รูปที่ 3.8 รูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ของซิลิกาชนิด GSAae

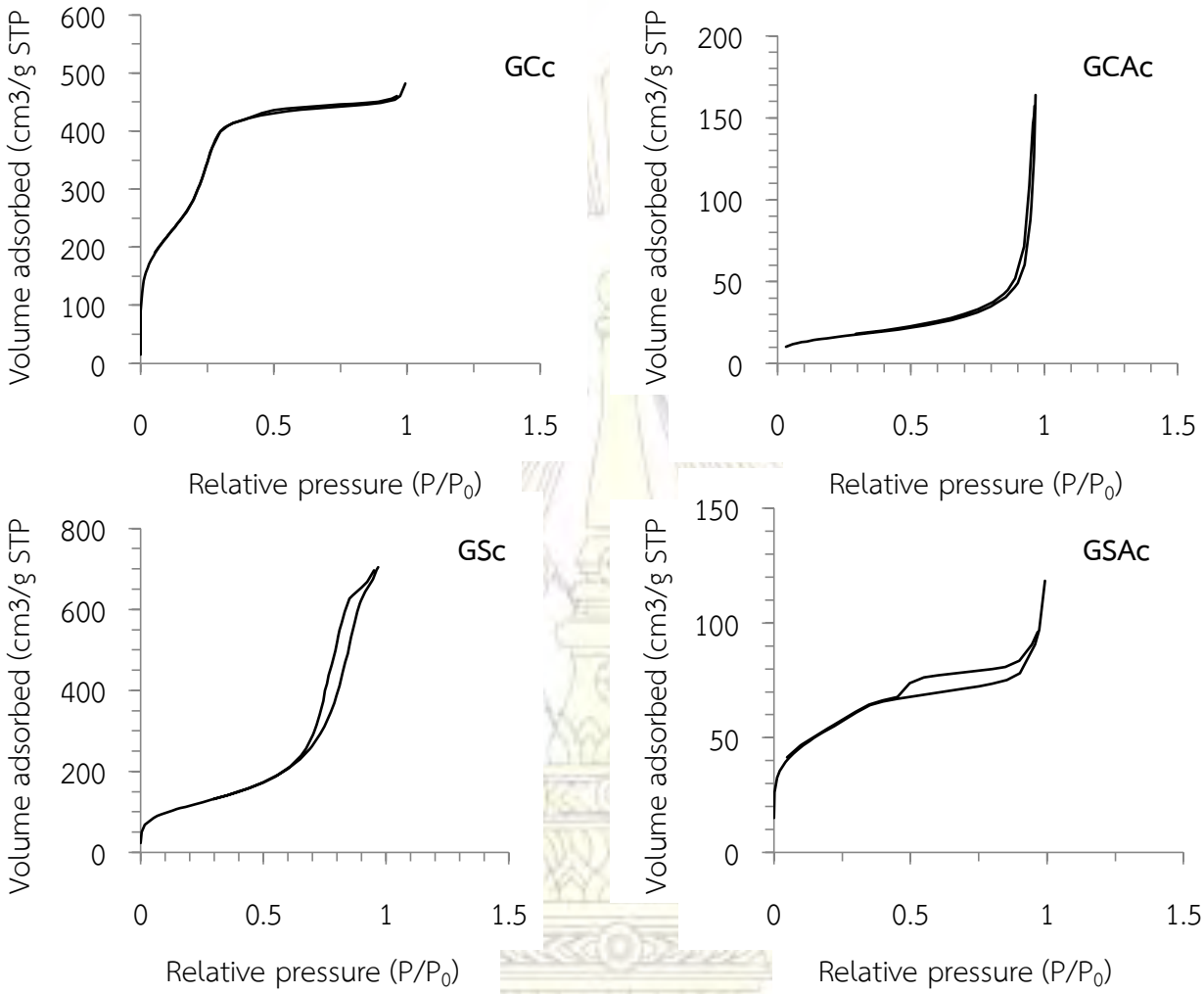
3.3.4 การหาพื้นที่ผิว ขนาดรูพรุนและการกระจายรูพรุนของซิลิกา

ลักษณะความเป็นรูพรุนของซิลิกาที่ผ่านการเผาที่อุณหภูมิสูงสามารถพิจารณาได้จาก Nitrogen adsorption-desorption isotherm ดังแสดงในรูปที่ 3.9 พบว่าซิลิกาทุกมีไอโซเทอมเป็น type IV แสดงถึงการดูดซับแบบ multilayer ที่เป็นสมบัติของเมโซพอรัส

โดยที่ GCc และ GSAc มี hysteresis loop เป็นแบบ H4 ตามระบบ IUPAC [13] ซึ่งแสดงถึงรูพรุนที่เกิดจากการรวมตัวของอนุภาคในลักษณะที่ทำให้เกิดรูพรุนแบบแผ่นที่มีขนาดและรูปร่างแบบเดียวกันหมด

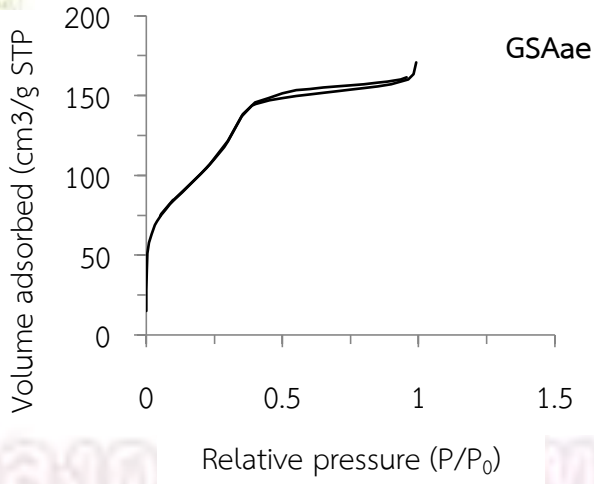
สำหรับซิลิกา GCAc และ GSC มี hysteresis loop เป็นแบบ H3 ซึ่งแสดงถึงรูพรุนที่เกิดจากการรวมตัวของอนุภาคในลักษณะที่ทำให้เกิดรูพรุนแบบแผ่นที่มีขนาดและรูปร่างแบบแตกต่างกัน

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



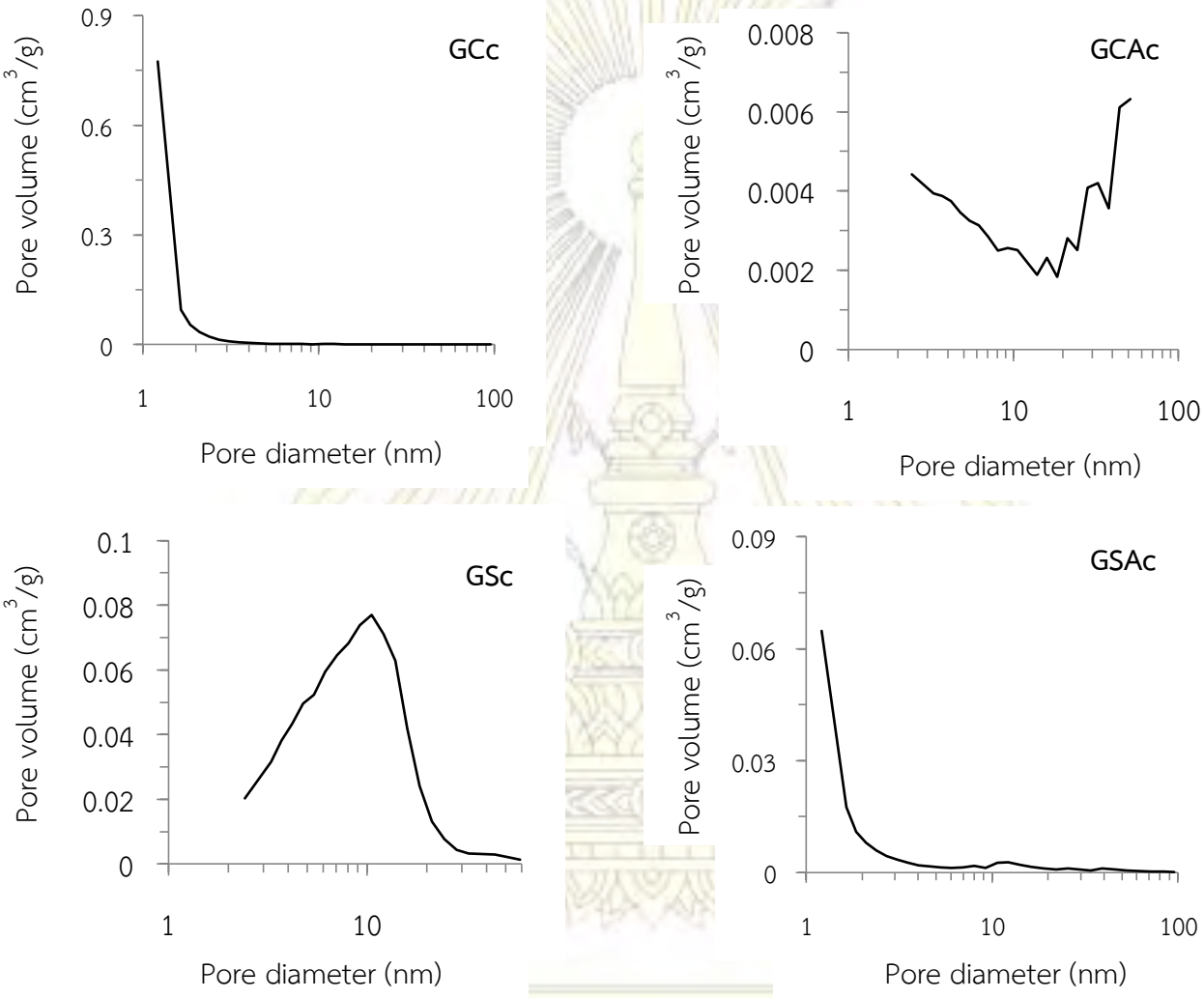
รูปที่ 3.9 Nitrogen adsorption-desorption isotherm ของซิลิกาที่ผ่านการเผาที่อุณหภูมิสูง

ในกรณีของซิลิกา GSAae ด้วย (รูปที่ 3.10) พบว่ามีไอโซเทอมเป็น แบบ type IV และมี hysteresis loop เป็นแบบ H4 เช่นเดียวกันกับ GSAc แสดงว่าการกำจัดสารต้นแบบด้วยตัวทำละลายกรดนั้น ไม่ส่งผลกระทบที่สำคัญต่อลักษณะความเป็นของรูพรุนของซิลิกา



รูปที่ 3.10 Nitrogen adsorption-desorption isotherm ของซิลิกา GSAae

สำหรับขนาดรูพรุนและการกระจายขนาดรูพรุนของซิลิกา สามารถหาได้จากวิธีของ Barret-Joyner-Halenda (BJH) ผลที่ได้แสดงดังรูปที่ 3.11

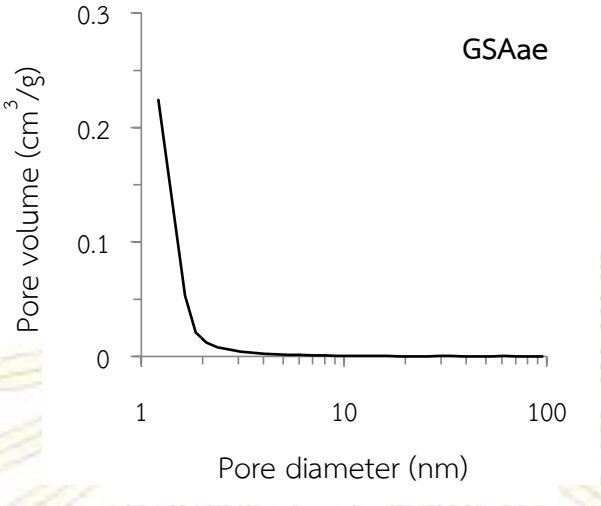


รูปที่ 3.11 BJH pore size distribution ของซิลิกาที่ผ่านการเผาที่อุณหภูมิสูง

จากรูปที่ 3.11 จะเห็นได้ว่าการกระจายขนาดรูพรุนของซิลิกา GCc และ GSAc มีการกระจายอยู่ในช่วงแคบ (narrow pore size distribution) โดยอนุภาคส่วนใหญ่มีขนาดรูพรุนเท่ากับ 3.0 และ 3.7 nm ตามลำดับ ส่วนซิลิกา GSc มีการกระจายขนาดรูพรุนในช่วงค่อนข้างกว้าง (broad pore size distribution) โดยอนุภาคส่วนใหญ่มีขนาดรูพรุนเท่ากับ 10.6 nm โดยซิลิกาทั้ง 3 ชนิด แสดงถึงความเป็นเมโซพอรัสซิลิกา

สำหรับซิลิกา GCAc นั้นมีการกระจายรูพรุนที่ไม่สม่ำเสมอ โดยมีการกระจายอยู่ในช่วง 2.4 – 51.1 nm ซึ่งอนุภาคส่วนใหญ่มีขนาดรูพรุนเท่ากับ 51.1 nm แสดงถึงความเป็นแมคโครพอรัสซิลิกา

ในกรณีของซิลิกา GSAae พบว่ามีการกระจายขนาดรูพุรนที่อยู่ในช่วงแคบ โดยขนาดของรูพรุนส่วนใหญ่อยู่ที่ 2.89 nm ดังแสดงในรูปที่ 3.12



รูปที่ 3.12 BJH pore size distribution ของซิลิกาชนิด GSAae

ข้อมูลที่ได้จากรูปที่ 3.7 – 3.12 สามารถนำมาคำนวณหาพื้นที่ผิวจำเพาะ , ปริมาตรของรูพรุน , ขนาดของรูพรุน, ระยะระหว่างระนาบและความหนาของผนังของซิลิกาได้ดังแสดงในตารางที่ 3.5

ตารางที่ 3.5 สมบัติทางกายภาพของซิลิกาชนิดต่าง ๆ

ชนิดของซิลิกา	Surface area (m^2/g)	Pore volume (cm^3/g)	Pore size (nm)	d (nm)	a_0 (nm)	Wall thickness (nm)
GCc	984.28	0.6263	3.0004	3.48	12.055	9.055
GCAc	58.16	0.2085	51.1000	-	-	-
GSc	422.53	1.0925	10.5700	-	-	-
GSAc	193.86	0.1292	3.6749	-	-	-
GSAae	362.83	0.2011	2.8884	-	-	-

* Specific surface area (a) : BET equation; pore volume (V_p) : single-point volume at P/P_0 = 0.99; pore size : $4V_p/a$, by BET; d = basal spacing from XRD; $a_0 = 2d\sqrt{3}$; wall thickness = a_0 – pore size.

3.4 การสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยซิลิกา

3.4.1 การศึกษาเบื้องต้น เพื่อหาความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและเวลาสกัดที่เหมาะสมในการศึกษา

สำหรับการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยซิลิกาในงานวิจัยนี้ใช้การสกัดในรูปแบบแบทช์ และเริ่มจากการหาเวลาที่เหมาะสมในการสกัด โดยได้ทำการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ความเข้ มข้นเริ่มต้น 300 mg/L และมีค่าแรงตึงผิวเท่ากับ 33.03±0.69 mN/m ด้วยซิลิกา 0.2000 g เป็นเวลา 3 ชั่วโมงและ 1 วัน ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ ผลที่ได้แสดงดังตารางที่ 3.6

ตารางที่ 3.6 ค่าแรงตึงผิวของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพหลังผ่านการสกัดเป็นเวลา 3 ชั่วโมง และ 1 วัน

สารตั้งต้น	สารต้นแบบ	ชนิดของซิลิกา	แรงตึงผิว (mN/m)	
			3 ชั่วโมง	1 วัน
TEOS	CTAB	GC	33.29±0.57	29.77±3.16
		GCc	33.98±0.05	31.02±0.02
	SDS	GS	22.49±0.16	22.43±0.08
		GSc	ไม่ได้ทดลอง	ไม่ได้ทดลอง
TEOS + APTES	CTAB	GCA	ไม่ได้ทดลอง	ไม่ได้ทดลอง
		GCAc	ไม่ได้ทดลอง	ไม่ได้ทดลอง
	SDS	GSA	34.18±0.12	34.17±0.13
		GSAc	35.14±0.33	35.27±0.33

ค่าแรงตึงผิวเป็นค่าที่แปรผกผันกับปริมาณของสารลดแรงตึงผิวที่มีอยู่ในสารละลาย กล่าวคือมีสารลดแรงตึงผิวอยู่ในสารละลายมาก ค่าแรงตึงผิวของสารละลายจะมีค่าต่ำ ในทางกลับกัน หากมีสารลดแรงตึงผิวในสารละลายน้อย ค่าแรงตึงผิวของสารละลายจะมีค่ามาก ดังนั้น หากสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีอยู่ในสารละลายมีปริมาณลดลงอันเนื่องมาจากถูกสกัดเข้าไปอยู่ในซิลิกา ค่าแรงตึงผิวของสารละลายก็จะมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้น

จากตารางที่ 3.6 จะเห็นได้ว่าค่าแรงตึงผิวของสารลดแรงตึงผิวหลังสกัดเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ด้วยซิลิกาทุกชนิดยกเว้นซิลิกา GS มีค่าใกล้เคียงหรือเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เมื่อเทียบกับค่าแรงตึงผิวเริ่มต้น แสดงว่าซิลิกาเหล่านี้สามารถสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้เล็กน้อยหรืออาจไม่สกัดเลย

ในกรณีของซิลิกา GS ที่มีค่าแรงตึงผิวลดลงอย่างมากนั้น คาดว่าเกิดจากการที่มี SDS หลุดออกมาจากซิลิกา ส่งผลให้สารละลายมีปริมาณสารลดแรงตึงผิวเพิ่มขึ้นจากเดิม ซึ่งสาเหตุของการหลุดออกของ SDS นั้นอาจเกิดจากแรงผลักทางไฟฟ้าระหว่างประจุที่ผิวหน้าของซิลิกากับไอออนของสารต้นแบบ

สำหรับในกรณีที่ทำการสกัดเป็นเวลา 1 วันนั้น พบว่า ซิลิกาทุกชนิดให้ผลในการสกัดในทำนองเดียวกันกับการสกัดเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ยกเว้นซิลิกา GC ที่ให้ค่าแรงตึงผิวลดลงมาก ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากการหลุดออกมาของ CTA^+ ที่มีอยู่ในซิลิกา ซึ่งมีโอกาสหลุดออกมามากขึ้นเมื่อทำการทดลองนานขึ้น

นอกจากนั้น เมื่อพิจารณาค่าแรงตึงผิวเริ่มต้นก่อนและหลังสกัด พบว่าทั้งสองค่านี้เป็นค่าที่อยู่ในช่วงที่ค่าแรงตึงผิวไม่เปลี่ยนแปลงตามความเข้มข้น (ดูรูปที่ 3.1) เพราะฉะนั้น การใช้ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 300 mg/L น่าจะไม่เหมาะสมในการศึกษาความสามารถในการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยซิลิกา

ดังนั้นในการทดลองครั้งต่อไปจึงเปลี่ยนมาใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็น 100 mg/L (ค่าแรงตึงผิวเริ่มต้นเท่ากับ 39.04±1.69) และ 50 mg/L (ค่าแรงตึงผิวเริ่มต้นเท่ากับ 41.12 ±0.79) ใช้เวลาในการสกัด 3 ชั่วโมง ใช้ปริมาณซิลิกาในการสกัดเท่ากับ 0.20 g ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 3.7

ตารางที่ 3.7 ค่าแรงตึงผิวของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ความเข้มข้นต่าง ๆ หลังจากทำการสกัดด้วยซิลิกา

สารตั้งต้น	สารต้นแบบ	ชนิดของซิลิกา	แรงตึงผิว (mN/m)		
			300 mg/L	100 mg/L*	50 mg/L*
TEOS	CTAB	GC	33.30±0.57	31.26±2.52	33.76±0.58
		GCc	33.98±0.05	39.10±3.13	42.10±2.36
	SDS	GS	22.49±0.16	30.88±0.56	36.74±2.81
		GSc	ไม่ได้ทดลอง	39.92±0.86	42.50±**1.92**
TEOS + APTES	CTAB	GCA	ไม่ได้ทดลอง	ไม่ได้ทดลอง	ไม่ได้ทดลอง
		GCAc	ไม่ได้ทดลอง	ไม่ได้ทดลอง	ไม่ได้ทดลอง
	SDS	GSA	34.18±0.12	31.25±0.87	31.90±0.30
		GSAc	35.14±0.33	43.04±1.01	44.67±1.63

*ค่าจากการทดลอง 4 ครั้ง

จากตารางที่ 3.7 จะเห็นได้ว่า เมื่อใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็น 100 mg/L และ 50 mg/L ได้ผลทำนองเดียวกันกับผลการทดลองก่อนหน้านี้ กล่าวคือค่าแรงตึงผิวของสารละลายสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผ่านการสกัดด้วยซิลิกาชนิดที่ผ่านการเผาที่อุณหภูมิสูง มีค่ามากกว่าหรือเ ท่ากับค่าเริ่มต้น ในขณะที่ค่าแรงตึงผิวของสารละลายสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผ่านการสกัดด้วยซิลิกาที่ได้จากการสังเคราะห์โดยตรง (as-synthesized silica) มีค่าลดลงเมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้น อันเนื่องมาจากการหลุดออกของสารต้นแบบที่เป็นสารลดแรงตึงผิวเช่นกัน ทั้งนี้ได้ทำ การทดลอง เพื่อ ยืนยันสมมติฐานการหลุดออกของสารต้นแบบ ที่มีอยู่ใน as-synthesized silica ดังนี้: ชั่งซิลิกา GC และ GSA ปริมาณ 1 g และ 0.1 M NaOH ปริมาตร 20 mL ลงในขวดสกัด จากนั้นทำการเข่าด้วยเครื่องเขย่าสารแบบหมุน เป็นเวลา 3 ชั่วโมง พบว่าค่าแรงตึงผิวของสารละลายมีค่าลดลงจาก 72.13 mN/m เป็น 34.13 และ 30.31 mN/m ตามลำดับ จึงยืนยันได้ว่าสารต้นแบบที่มีอยู่ใน as-synthesized silica มีการหลุดออกมาจริง

ดังนั้นการทดลองต่อ ๆ ไปของการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยซิลิกา จึงใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของ สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็น 50 mg/L เนื่องจากสามารถบอกความแตกต่างของค่าแรงตึงผิวก่อนการสกัดและหลังการสกัดได้อย่างชัดเจน และยังเป็นการประหยัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ใช้ในการเตรียมสารละลายตัวอย่างได้อีกด้วย

3.4.2 การหาชนิดของซิลิกาที่เหมาะสมในการดูดซับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

ในการทดลองนี้ใช้ปริมาณซิลิกาในการสกัดครั้งละ 0.20 g ทำการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเข้มข้น 50 mg/L ซึ่งมีค่าแรงตึงผิวเริ่มต้นของการทดลองครั้งที่ 1, 2 และ 3 เท่ากับ 42.59±1.41, 43.89±1.05 และ 43.18±2.03 mN/m ตามลำดับ

ตารางที่ 3.8 ค่าแรงตึงผิวของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพหลังผ่านการสกัดด้วยซิลิกาแต่ละชนิด

สารตั้งต้น	สารต้นแบบ	ซิลิกา	แรงตึงผิว (mN/m)																	
			วันที่ 1						วันที่ 2						วันที่ 3					
			ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	เฉลี่ย	sd	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	เฉลี่ย	sd	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	เฉลี่ย	sd
ค่าเริ่มต้น			42.26	43.78	41.76	44.83	42.59	1.41	44.45	42.46	43.80	44.86	43.89	1.05	45.62	42.70	43.67	40.74	43.18	2.03
TEOS	CTAB	GCc	46.14	46.47	46.39	48.43*	46.33	0.17	45.61	46.30	45.87	47.50	46.32	0.84	48.10	48.32	44.19*	48.21	48.21	0.11
	SDS	GSc	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	44.37	45.51	44.93	45.25	45.02	0.49
TEOS + APTES	CTAB	GCAc	42.28	44.33	45.09	43.03	43.68	1.26	45.42	47.01	44.98	43.80	45.30	1.33	44.19	42.74	44.13	46.63	44.42	1.62
	SDS	GSAc	42.68	44.26	43.81	45.76	44.12	1.28	45.99	45.23	43.91	45.70	45.21	0.92	45.73	45.52	44.51	45.26	45.26	0.53
		GSAae	44.35	44.68	43.70	44.86	44.40	0.51	45.74	46.96	49.27	45.87	46.96	1.63	46.89	45.38	46.22	43.48	46.16	1.48

* จากการทำ Q test พบว่าที่ความเชื่อมั่น 90 % ข้อมูลดังกล่าวจัดเป็นข้อมูลไม่เข้าพวก

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์

จากตารางที่ 3.8 เมื่อนำข้อมูลค่าแรงตึงผิวเริ่มต้นของการทดลองในแต่ละวัน มาวิเคราะห์ด้วย One-Way ANOVA เพื่อตรวจสอบว่าผลการทดลองที่ได้นั้นมีความแตกต่างกันหรือไม่ พบว่าผลการทดลองที่ได้จากการทำการทดลองในแต่ละวันให้ผลไม่แตกต่างกันที่ความเชื่อมั่น 95% (ดูผลการคำนวณได้ที่ภาคผนวก) แสดงว่าการทำ การทดลองนี้มีความสามารถในการให้ผลซ้ำ (Reproducibility) ดังนั้นสามารถรวมผลการทดลองที่ได้ทั้ง 3 วันเข้าด้วยกันได้ และเมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าแรงตึงผิวของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพก่อนและหลังสกัดด้วยซิลิกาชนิดต่าง ๆ ด้วยการวิเคราะห์ Independent Sample T Test พบว่าที่ความเชื่อมั่น 99% มีเพียงซิลิกา GCc และ GSAae เท่านั้นที่ให้ผลก่อนและหลัง การสกัดที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ดูผลการคำนวณได้ที่ภาคผนวก) โดยซิลิกา GCc มีค่าความแตกต่างของค่าแรงตึงผิวก่อนและหลังการสกัด มากที่สุด แสดงว่าซิลิกาชนิด GCc มีประสิทธิภาพในการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพดีที่สุด ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการเรียงตัว ที่เป็นระเบียบ ของโครงสร้างซิลิกา ปริมาณพื้นที่ผิว หรือขนาดของรูพรุน ดังนั้นในการทดลองต่อไปจึงใช้ซิลิกาชนิด GCc ในการศึกษาในหัวข้อต่อไป

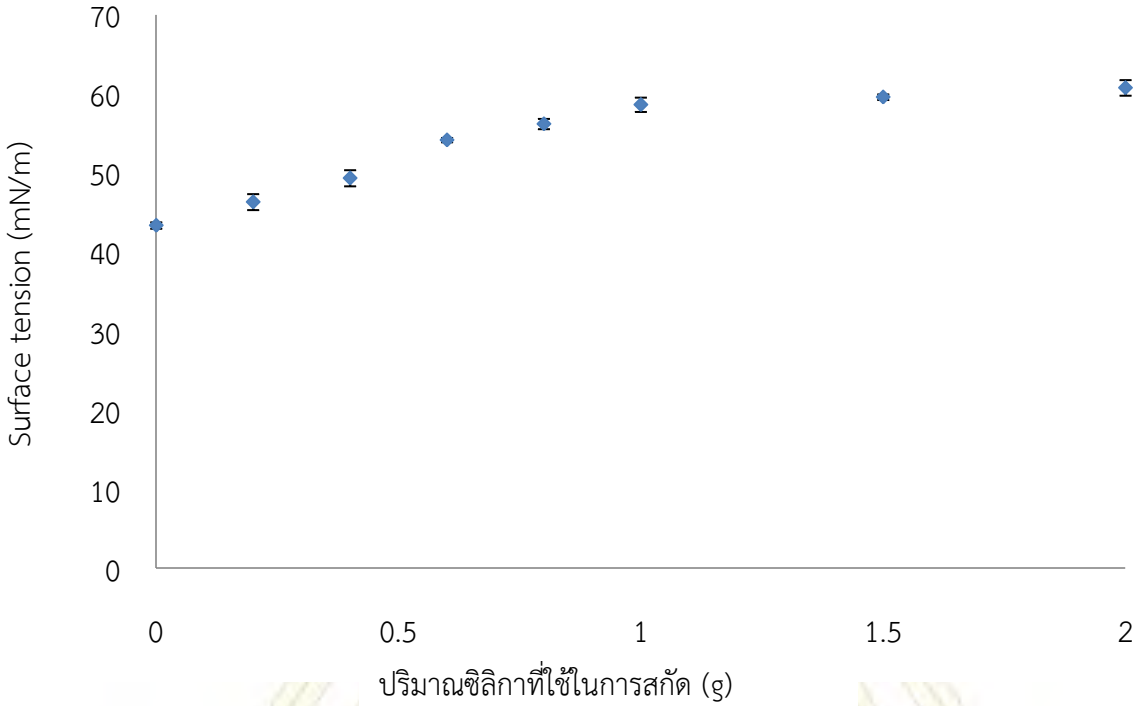
3.4.3 ความสามารถในการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของซิลิกา

ความสามารถในการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของซิลิกา GCc หาได้จากการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วย ซิลิกาปริมาณต่าง ๆ โดยในการทดลองนี้ได้ทำ การสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเข้มข้น 50 mg/L ปริมาตร 20 mL ด้วยซิลิกา 0.2 – 2.0 g เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทำการทดลองซ้ำอีก 3 ครั้ง ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 3.9 และรูปที่ 3.13 ซึ่งจะเห็นได้ว่าค่าแรงตึงผิวมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นและเข้าสู่ค่าคงที่ที่ 58.64±1 mN/m เมื่อใช้ปริมาณซิลิกาตั้งแต่ 1.0 g ขึ้นไป ซึ่งเมื่อนำค่าดังกล่าวไปเปรียบเทียบกับตารางแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าแรงตึงผิวของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (ดูตารางที่ 3.1) จะเห็นได้ว่าปริมาณของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่เหลืออยู่หลังการสกัดด้วยซิลิกาตั้งแต่ 1 กรัมขึ้นไปนั้นมีค่าต่ำกว่า 1.0 mg/L ซึ่งแสดงว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ใส่ลงในสารละลายถูกสกัดด้วยซิลิกาได้เกือบหมด โดยคิดเป็นปริมาณสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ถูกสกัดต่อน้ำหนักของซิลิกาเท่ากับ 1 mg/g

ตารางที่ 3.9 ค่าแรงตึงผิวของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพหลังจากสกัดด้วยซิลิกาปริมาณต่าง ๆ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

ปริมาณซิลิกา	แรงตึงผิว (mN/m)					
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	เฉลี่ย	sd
0.0	43.19	43.83	43.08	45.59*	43.37	0.41
0.2	45.60	45.34	47.04	47.35	46.33	1.01
0.4	48.71	48.28	50.45	49.95	49.35	1.02
0.6	54.00	54.34	53.88	54.46	54.17	0.27
0.8	57.13	56.18	55.71	55.80	56.20	0.65
1.0	57.46	58.40	59.34	59.36	58.64	0.91
1.5	59.40	60.09	59.62	59.29	59.60	0.35
2.0	61.12	59.77	61.99	60.22	60.78	0.99

*จากการทำ Q test พบว่าที่ความเชื่อมั่น 90 % ข้อมูลดังกล่าวจัดเป็นข้อมูลไม่เข้าพวก



รูปที่ 3.13 ค่าแรงตึงผิวของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพหลังจากสกัดด้วยซิลิกาปริมาณต่าง ๆ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

3.4.4 ปัจจัยด้านเวลาที่มีผลต่อความสามารถในการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของซิลิกา

การศึกษาปัจจัยด้านเวลาที่มีผลต่อความสามารถในการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของซิลิกา ทำได้โดยการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่เข้มข้น 50 mg/L (มีค่าแรงตึงผิวเริ่มต้นเท่ากับ 43.82±0.20) ด้วยซิลิกา 1.0 g เป็นเวลาที่ 30 นาที, 1 ชั่วโมง, 3 ชั่วโมง และ 1 วัน ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ ให้ผลดังตารางที่ 3.10 ซึ่งจะเห็นได้ว่า ค่าแรงตึงผิวของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ได้หลังจากทำการสกัดเป็นต่าง ๆ กัน ให้ผลที่ไม่แตกต่างกัน กล่าวคือสามารถสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 50 mg/L ปริมาตร 20 mL ได้จนมีปริมาณสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเหลือน้อยกว่า 1 mg/L (เมื่อเทียบกับตารางแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าแรงตึงผิวกับปริมาณสารลดแรงตึงผิว (ตารางที่ 3.1) ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าระยะเวลาในการสกัด 30 นาที นั้น เพียงพอต่อการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ความเข้มข้นเริ่มต้นดังกล่าว

ตารางที่ 3.10 ค่าแรงตึงผิวของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพหลังผ่านการสกัดเป็นเวลาต่าง ๆ

เวลาที่ใช้สกัด	ค่าแรงตึงผิว (mN/m)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	sd
30 นาที	59.29	60.56	60.88	60.24	0.84
1 ชั่วโมง	59.40	60.25	59.91	59.85	0.43
3 ชั่วโมง	59.42	59.72	59.64	59.59	0.16
1 วัน	60.72	61.12	60.47	60.77	0.33

3.5 การสังเคราะห์ซิลิกาโดยใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นสารต้นแบบ

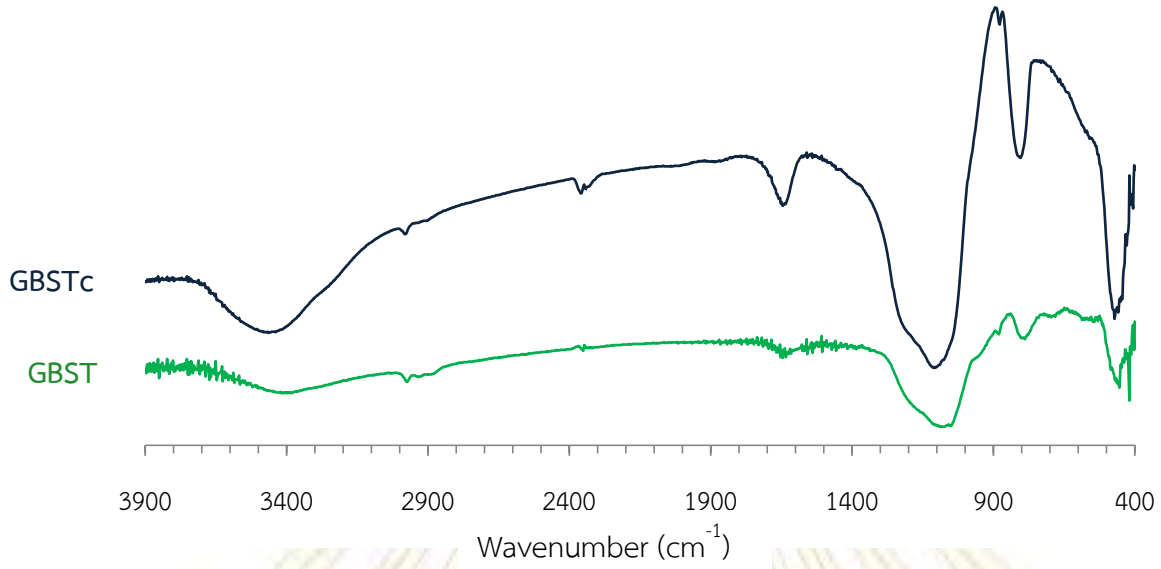
การสังเคราะห์ซิลิกาโดยใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นสารต้นแบบในงานวิจัยนี้ทำตามวิธีของ Toshiyoki [22] และ Vittorio [23] โดยมีข้อแตกต่างอยู่ที่อัตราส่วนขององค์ประกอบที่ใช้ในการสังเคราะห์ ซึ่งผลการสังเคราะห์พบว่าทั้ง 2 วิธีนี้สามารถใช้ในการเตรียมซิลิกาโดยมีสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นสารต้นแบบได้จริง ซึ่งการสังเคราะห์ทั้ง 2 วิธีนั้นพบว่า เมื่อเติมสารตั้งต้นลงในสารละลายของสารลดแรง ตึงผิวชีวภาพ ต้องใช้เวลาประมาณ 15 นาที จึงเริ่มสังเกตเห็นอนุภาคของซิลิกาเกิดขึ้นในสารละลาย และเมื่อเวลาผ่านไปนานขึ้นสารละลายมีความขุ่นมากขึ้น ในขั้นตอนของการกรองแยกซิลิกาออกมา พบว่ากรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 5 ได้ค่อนข้างยาก แสดงว่าซิลิกาที่สังเคราะห์ได้นี้มีขนาดค่อนข้างเล็ก นอกจากนั้นซิลิกาที่ได้จากการสังเคราะห์ตามวิธีของ Toshiyoki [22] มีสีเหลืองเข้มกว่าซิลิกาที่ได้จากการสังเคราะห์ตามวิธีของ Vittorio [23] ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากมีปริมาณที่แตกต่างกันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ซึ่งเป็นสารที่มีสีเหลือง โดยการ สังเคราะห์ตามวิธีของ Toshiyoki ได้ซิลิกาออกมาเท่ากับ 0.4202 g และการสังเคราะห์ตามวิธีของ Vittorio ได้ซิลิกา ออกมาเท่ากับ 0.3515 g หลังจากนั้นได้นำซิลิกาบางส่วนที่สังเคราะห์ได้ไปเผาที่ อุณหภูมิสูง ทำให้ได้ซิลิกาที่ใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นสารต้นแบบทั้งหมด 4 ชนิด ดังแสดงในตารางที่ 3.11

ตารางที่ 3.11 ชนิดของซิลิกาที่สังเคราะห์โดยใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นสารต้นแบบ

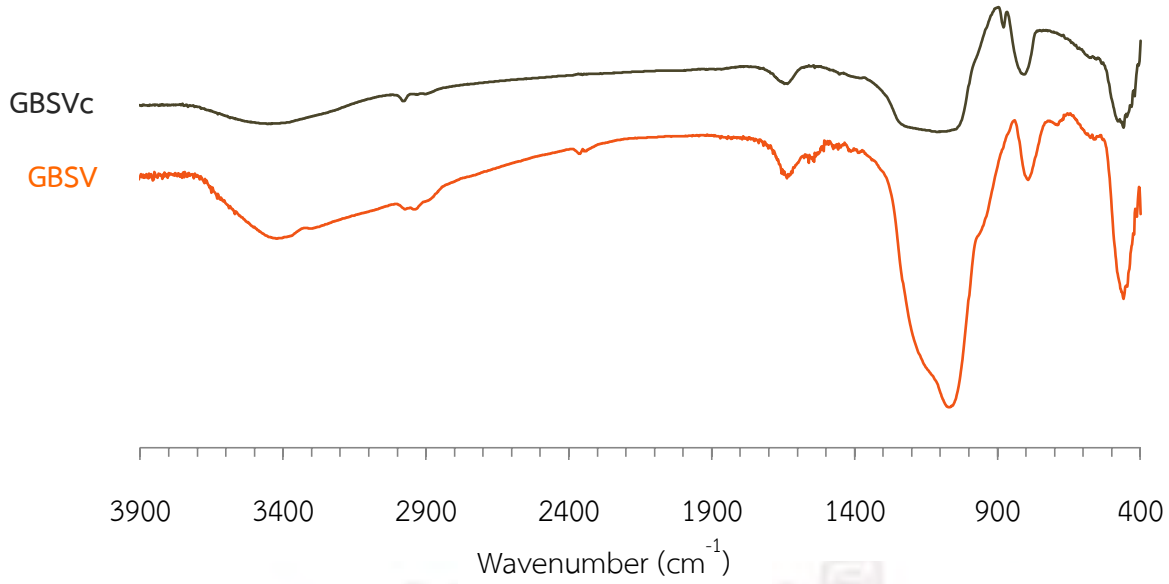
สังเคราะห์ตามวิธีของ	As-synthesized silica หรือ Calcined silica	ชื่อซิลิกา
Toshiyoki [22]	As-synthesized silica	GBST
	Calcined silica	GBSTc
Vittorio [23]	As-synthesized silica	GBSV
	Calcined silica	GBSVc

เมื่อนำไปตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันของซิลิกาที่ใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นสารต้นแบบด้วยเทคนิค IR ให้ผลแสดงดังรูปที่ 3.14 และ 3.15 โดยปรากฏแถบที่แสดงลักษณะเฉพาะของซิลิกา ได้แก่ แถบที่ความยาวคลื่นประมาณ 3450 cm^{-1} แสดงการสั่นของ O-H stretching ของหมู่ซิลานอล (R-OH) แถบที่ความยาวคลื่นประมาณ 1,100 cm^{-1} , 820 cm^{-1} และ 450 cm^{-1} แสดงการสั่นของ Si-O-Si bending, asymmetric Si-O-Si stretching และ symmetric Si-O-Si stretching ของหมู่ไซลอกเซนตามลำดับ ทั้งนี้ควรทำการตรวจสอบลักษณะทางกายภาพอื่น ๆ ของซิลิกาที่สังเคราะห์ได้นี้ต่อไป

ศูนย์วิทยทรัพยากร
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



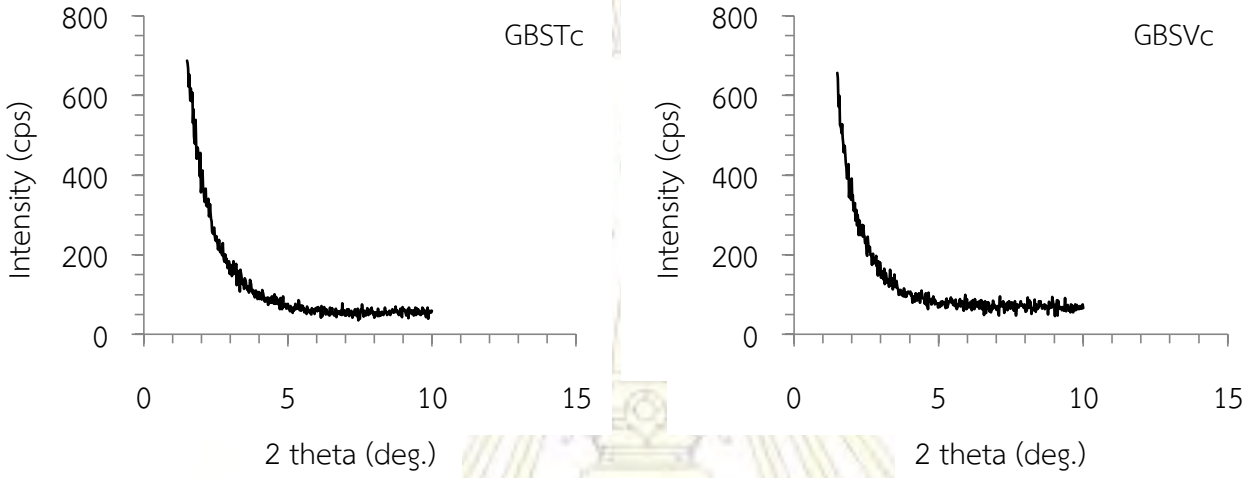
รูปที่ 3.14 IR สเปกตรัมของซิลิกา GBST และ GBSTc



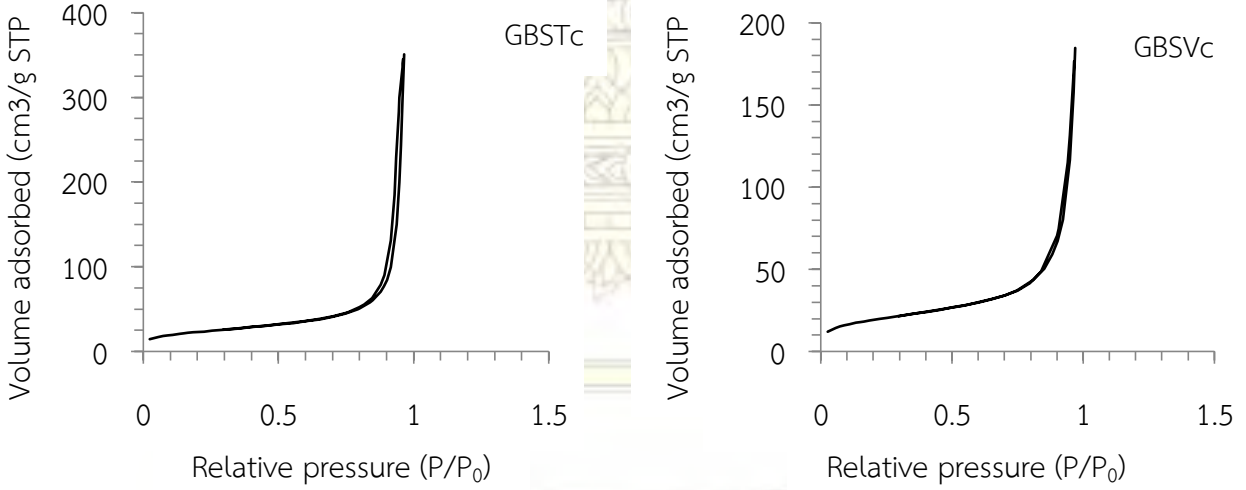
รูปที่ 3.15 IR สเปกตรัมของซิลิกา GBSV และ GBSVc

และเมื่อนำไปศึกษาสมบัติทางกายภาพของซิลิกา พบว่าซิลิกาที่ใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นสารต้นแบบที่ผ่านการเผาที่อุณหภูมิสูงทั้ง 2 ชนิดนั้นมีโครงสร้างที่มีลักษณะเป็นอสัณฐาน ดังแสดงในรูปที่ 3.16 มีไอโซเทอมเป็น type IV แต่มี hysteresis loop เป็นแบบ H3 ซึ่งแสดงถึงรูพรุนที่เกิดจากการรวมตัวของอนุภาคในลักษณะที่ทำให้เกิดรูพรุนแบบแผ่นที่มีขนาดและรูปร่างแบบแตกต่างกัน ดังแสดงในรูปที่ 3.17

และมีการกระจายของรูพรุนไม่สม่ำเสมอ โดยที่ GBSTc มีขนาดรูพรุนส่วนใหญ่เท่ากับ 44.17 nm ส่วน GBSVc มีขนาดรูพรุนส่วนใหญ่เท่ากับ 28.25 nm ดังแสดงในรูปที่ 3.18

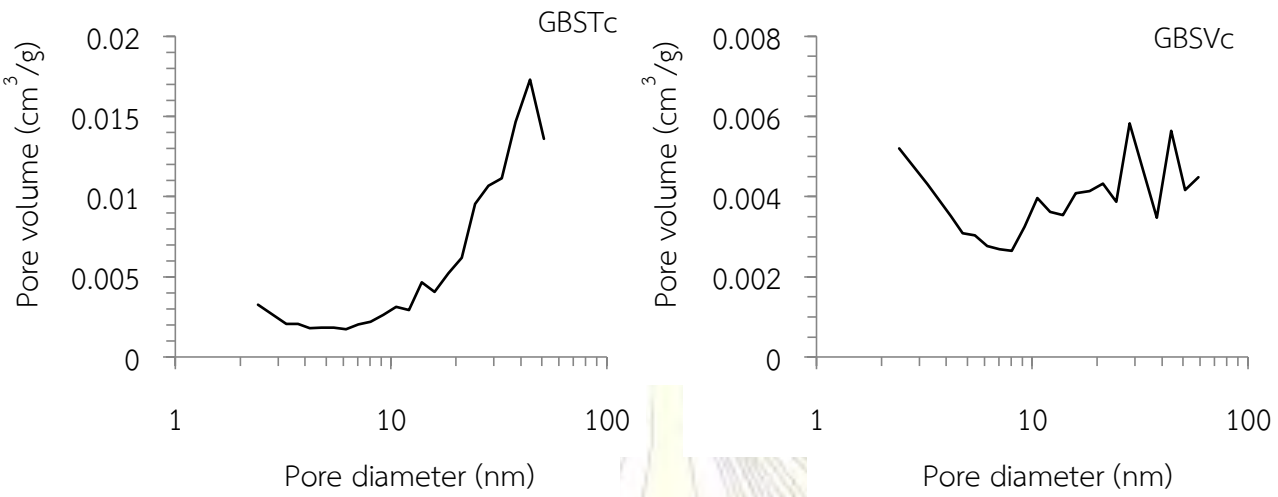


รูปที่ 3.16 รูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ของซิลิกา GBSTc และ GBSVc



รูปที่ 3.17 Nitrogen adsorption-desorption isotherm ของซิลิกา GBSTc และ GBSVc

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.18 BJH pore size distribution ของซิลิกาชนิด GBSTc และ GBSVc

ตารางที่ 3.12 สมบัติทางกายภาพของซิลิกา GBSTc และ GBSVc

ชนิดของซิลิกา	Surface area (m^2/g)	Pore volume (cm^3/g)	Pore size (nm)
GBCTc	83.590	0.5074	44.14
GBSVc	70.764	0.2640	28.25

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4
สรุปผลการทดลอง

การศึกษาหาชนิดของซิลิกาที่เหมาะสมในการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ มีปัจจัยที่ทำการศึกษาได้แก่ ประเภทของสารตั้งต้นที่ใช้เป็นแหล่งของซิลิกา ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือสารตั้งต้นเดียว (i.e. TEOS) และสารตั้งต้นผสม (i.e. TEOS และ APTES) ชนิดของสารลดแรงตึงผิวที่ใช้ เป็นสารต้นแบบ ในการจัดรูปแบบโครงสร้างของซิลิกา ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือสารลดแรงตึงผิวชนิดแคตไอออน (i.e. CTAB) และสารลดแรงตึงผิวชนิดแอนไอออน (i.e. SDS) และมีการนำซิลิกาทุกชนิดที่ได้จากการสังเคราะห์ (as-synthesized silica) ไปทำการกำจัดสารต้นแบบออก ด้วยวิธีการเผาที่อุณหภูมิสูง เพื่อให้ได้เป็นซิลิกาที่ผ่านการเผาที่อุณหภูมิสูง (calcined silica) นอกจากนั้นนำซิลิกาที่ใช้สารตั้งต้นผสม และใช้ SDS เป็นสารต้นแบบ มากำจัดสารต้นแบบออกด้วยวิธีการสกัดตัวทำละลายกรด ทำให้ได้ซิลิการวมทั้งสิ้น 9 ชนิด จากนั้นนำซิลิกาที่สังเค ราะห์ได้ไปตรวจสอบหมู่ฟังก์ชัน ลักษณะความเป็นผลึก พื้นที่ผิว ขนาดของรูพรุน และการกระจายของรูพรุนของซิลิกา และศึกษาสมบัติในการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ พบว่ามีเพียงซิลิกา GCc เท่านั้น ซึ่งสังเคราะห์จาก TEOS และใช้ CTAB เป็นสารต้นแบบ และนำไปผ่านการเผาที่อุณหภูมิสูง ที่มีลักษณะการจัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบ และมีพื้นที่ผิวจำเพาะสูงถึง 984.28 m^2/g และมีความสามารถในการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้มากที่สุด นอกจากนั้นการสังเคราะห์ซิลิกา โดยใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตขึ้นเองเป็นสารต้นแบบสามารถทำได้สำเร็จด้วยเช่นกัน

ข้อเสนอแนะ

1. ศึกษาลักษณะทางกายภาพของซิลิกาทุกชนิดทั้ง as-synthesized silica และ calcined silica เพื่อการเปรียบเทียบข้อมูลและการอธิบายที่ชัดเจนมากยิ่งขึ้น
2. ทำการทดลองเพิ่มเติมในส่วนของ desorption และการนำไปสกัดจริงในอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย
3. ทำการทดลองเพิ่มเติมในส่วนของการหาความสามารถในการนำกลับมาใช้ซ้ำของซิลิกา
4. ทำการทดลองเพิ่มเติมในส่วนของการนำซิลิกาไปใช้ในการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ในกระบวนการการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากแบคทีเรียจริง

เอกสารอ้างอิง

1. Sousa, M.; Melo, V. M. M.; Rodrigues, S.; Sant'ana, H. B.; Goncalves, L. R. B. Screening Biosurfactant-Producing Bacillus Strains Using Glycerol from the Biodesel Synthesis as Main Carbon Source. *Bioprocess Biosyst. Eng.* **2012**, *35*, 987-906.
2. Rahman, K. S. M.; Gakpe, E. Production Characterization and Applications of Biosurfactants-Review. *Biotechnology*. **2008**, *7 (2)*, 360-370.
3. Catherine, N. M. Recent Advance in the Environmental Applications of Biosurfactants-Review. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2009**, *14*, 372-378.
4. Khondee, N.; Tathong, S.; Pinyakong, O.; Muller, R.; Soonglerdsongpha, S.; Ruangchainikom, C.; Tongcumpou, C.; Leupromchai, E. Lipopeptide Biosurfactant Production by Chitosan-Immobilized *Bacillus sp.* GY19 and Their Recovery by Foam Fractionation. *Biochem. Eng. J.* **2015**, *93*, 47-54.
5. Myera, D. Surfactant Science and Technology 2nd ed. New York: VCH Pubbishers, Inc. **1992**, p. 11-13.
6. http://www.kruss.de/services/education-theory/glossary/cmc/ (Access)
7. Thurman, E. M.; Mills M. S. Solid-Phase Extraction Principle and Practice. New York:John Wiley & Sons, Inc. **1998**, p 9-17, 29, 38-43.
8. Berthod, A. Silica : Backbone Material of Liquid Chromotographic Colum Packings. *J. Chromotogr.* **1991**, *549*, 1-28.
9. Iler, R.K. The Chemistry of Silica : Solubility, Polymerization, Colloid and Surface Properties, and Biochemistry. New York : John Willey & Sons, Inc. 1**979**, p. 174 ,511-514.
10. Brinker, C. J. Scherer, G. W. Sol-Gel Science. London : Academic press, Inc. **1990**, p. 103-104, 108.
11. Beck, J. S.; Vartuli, J. C.; Roth, W. J.; Leonowicz, M. E.; Kresge, C. T.; Schmitt, K. D.; Chu, C. T. W.; Olson, D. H.; Sheppard, E. W.; Mccullen, S. B.; Higgins, J. B.; Schlenker, J. L. A New Family of Mesoporous Molecular Sieves Prepared with Liquid Crystal Templates. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *144*, 10834-10843.
12. Luo, Y.; Lin, J. Synthesis and Characterization of CO (II) Salen Functionalized MCM-41 Type Hybrid Mesoporous Silica and Their Application in Catalysis for Styrene Oxidation with H_2O_2. *Micropor. Mesopor. Mat*. **2005**, *85*, 23-30.
13. Zhao, Y. X.; Ding, M. Y.; Chen, D. P. Adsorption Properties of Mesoporous Silicas for Organic Pollutants in Water. *Anal. Chim. Acta.* **2005,** *542*, 193-198.

14. เอกสารประกอบการเรียนการสอนวิชา organic chemistry loboratory I รหัสวิชา 2302275 ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
15. Bock, J.; Su, G. J. Interpretation of the Infrared Spectra of Fused Silica. J. Amer. *Ceram. Soc*. **1970**, *53*, p. 69.
16. Skoog, D. A.; Leary, J. J. Principle of Instrumental Analysis 4th ed. New York : Saunders College. **1992**, p. 128, 363-364, 394-399.
17. Leofanti, G.; Padovan, M. T. G.; Venturelli, B. Surface Area and Pore Texture of *Catalysts. Catal*. Today. **1998**, *41*, 207-219.
18. Kirti, V. D.; Asha, A. J.; Singh, S. K. Adsorption-Desorption Process Using Wood-Based Activated Carbon for Recovery of Biosurfactant from Fermented Distillery Wastewater. *Biotechnol. Prog*. **2005**, *21*, 860-867.
19. Wang, Y.; Lu, Z.; Bie, X. Separation and Extraction of Antimicrobial Lipopeptides Produced by B*acillus Amyloliquefaciens* ES-2 with Macroporous Resin. **2010**, *231*, 189-196.
20. Sharma, D.; Saharan, S. B.; Chauhan, N.; Procha, S.; Lal S. Isolation and Functional Characterization of Novel Biosurfactant Produced by *Entercoccus Faecium*. *SpringPlus*. **2015**, 4:4.
21. Boos, A.; Intasiri, A.; Brunette, J. P.; Leroy, M. J. F. Surfactant-Templated Silica Doped with 1-Phenyl-3-Methyl-4-Stearoylpyrazol-5-One (HPMSP) as a New Sorbent. *J. Mater. Chem*. **2002**, *12*, 886-889.
22. Toshiyuki, Y.; Hideaki, Y.; Takashi, T. Synthesis of Anionic-Surfactant-Templated Mesoporus Silica Using Organoalkoxysilane-Containing Amino Groups. *Chem. Mater*. **2003**, *15*, 4536-4538.
23. Vittorio, B.; Daniel, G. P.; Enzo, M.; Giuliana, M.; Luca, B.; Luisa, G.; Raniero, M. A Waste-Derived Biosurfactant for the Preparation of Template Silica Powders. *ChemSusChem*. **2010**, *3*, 445-452.
24. Takashi, T.; Hideaki, Y.; Toshiyuki, Y.; Shunai, C.; Kazutami, S. Mesoporous Silica and Process for Producing the Same. U.S. Patent 0267038, December 30, 2004.
25. https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/docs/Sigma/Product_Information_Sheet/1/s3523pis.pdf

ภาคผนวก

ก. การคำนวณหาปริมาณสารอินทรีย์ทั้งหมดที่มีในโครงสร้างของซิลิกา

การหาปริมาณสารอินทรีย์ทั้งหมดที่มีอยู่ในซิลิกาตามทฤษฎีสามารถคำนวณได้จากองค์ประกอบโดยโมลของสารตั้งต้นที่ใช้ในการสังเคราะห์ ดังนี้

ตารางที่ ผ.1 องค์ประกอบโดยโมลของสารที่ใช้ในการสังเคราะห์ซิลิกาชนิดต่าง ๆ

ชนิดของสาร	ชนิดของซิลิกา							
	GC		GCA		GS		GSA	
	(g)	(mol)	(g)	(mol)	(g)	(mol)	(g)	(mol)
TEOS	5.2780	0.0253	5.2780	0.0253	1.0410	0.005	1.0410	0.005
APTES	-	-	5.5814	0.0252	-	-	1.1068	0.005
CTAB	1.6409	0.0045	1.6400	0.0045	-	-	-	-
SDS	-	-	-	-	0.2880	0.001	0.2880	0.001
H2O	63.04	3.5	63.04	3.5	32.4	1.8	32.4	1.8
EtOH	14.9310	0.3241	14.9310	0.3241	9.164	0.2	9.164	0.2

จากตารางที่ ผ .1 นำค่าในตารางมาคิดหาปริมาณสารอินทรีย์ทั้งหมดที่ มีในโครงสร้างของซิลิกาแต่ละชนิด จากปฏิกิริยาการสังเคราะห์ซิลิกาต่อไปนี้

$$Si(OR)_4 + 2H_2O \rightleftharpoons SiO_2 + 4ROH \qquad \text{ผ.1}$$

$$nR\text{-}Si(OR')_3 + 1.5nH_2O \rightleftharpoons (R\text{-}SiO_{1.5})_n + 3nR'OH \qquad \text{ผ.2}$$

1. ซิลิกา GC

จากปริมาณ TEOS 0.0253 โมล จะได้ SiO_2 0.0253 โมล

คิดเป็น SiO_2 = 0.0253 x 60.0843 = 1.5201 g

ปริมาณ CTAB 0.0045 โมล คือมี CTA^+ = 0.0045 x 284.546 = 1.2805 g

น้ำหนักรวมของซิลิกาคือ = 1.5201 + 1.2805 = 2.8006 g

ดังนั้นมีสารอินทรีย์ในซิลิกา = (1.2805/2.8006) x 100 = 45.72 %

2. ซิลิกา GCA

จากปริมาณ TEOS 0.0253 โมล จะได้ SiO_2 0.0253 โมล

คิดเป็น SiO_2 = 0.0253 x 60.0843 = 1.5201 g

จากปริมาณ APTES 0.0252 โมล จะได้ $(R\text{-}SiO_{1.5})$ 0.0252 โมล

คิดเป็น $R\text{-}SiO_{1.5}$ = 0.0252 x 110.186 = 2.7767 g

และจากปริมาณ APTES 0.0252 โมล คือมีหมู่ $C_3H_6NH_3^+$ = 0.0252 x 58.1028 = 1.4642 g

ปริมาณ CTAB 0.0045 โมล คือมี CTA^+ = 0.0045 x 284.546 = 1.2805 g

น้ำหนักรวมของซิลิกาคือ = 1.5201 + 2.7767 + 1.2805 = 5.5773 g

น้ำหนักรวมของสารอินทรีย์คือ = 1.2805 + 1.4642 = 2.7447 g

ดังนั้นมีสารอินทรีย์ในซิลิกา = (2.7447/5.5773) x 100 = 49.21 %

3. ซิลิกา GS

จากปริมาณ TEOS 0.005 โมล จะได้ SiO_2 0.005 โมล

คิดเป็น SiO_2 = 0.005 x 60.0843 = 0.3004 g

ปริมาณ SDS 0.001 โมล คือมี DS = 0.001 x 265.3822 = 0.2654 g

น้ำหนักรวมของซิลิกาคือ = 0.3004 + 0.2654 = 0.5686 g

ดังนั้นมีสารอินทรีย์ในซิลิกา = (0.2654/0.5686) x 100 = 46.68 %

4. ซิลิกา GSA

จากปริมาณ TEOS 0.005 โมล จะได้ SiO_2 0.005 โมล

คิดเป็น SiO_2 = 0.005 x 60.0843 = 0.3004 g

จากปริมาณ APTES 0.005 โมล จะได้ ($R\text{-}SiO_{1.5}$) 0.005 โมล

คิดเป็น $R\text{-}SiO_{1.5}$ = 0.005 x 110.186 = 0.5509 g

และมีหมู่ $C_3H_6NH_3^+$ = 0.005 x 58.1028 = 0.2905 g

ปริมาณ SDS 0.001 โมล คือมี DS^- = 0.001 x 265.3822 = 0.2654 g

น้ำหนักรวมของซิลิกาคือ = 0.3004 + 0.5509 + 0.2654 = 1.1167 g

น้ำหนักรวมของสารอินทรีย์คือ = 0.2654 + 0.2905 = 0.5559 g

ดังนั้นมีสารอินทรีย์ในซิลิกา = (0.5559/1.1167) x 100 = 49.78 g

สำหรับการหาปริมาณสารอินทรีย์ทั้งหมดที่มีอยู่ในซิลิกา ที่ได้จากการสังเคราะห์ของซิลิกาที่ใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นสารต้นแบบสามารถคำนวณได้ดังนี้

ตารางที่ ผ.2 องค์ประกอบโดยโมลของสารที่ใช้ในการสังเคราะห์ซิลิกาที่ใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นสารต้นแบบ

ชนิดของสาร	ชนิดของซิลิกา			
	GBST		GBSV	
	(g)	(mol)	(g)	(mol)
TEOS	1.0410	0.0050	1.6926	0.0081
APTES	1.1068	0.0050	0.2743	0.0012
Biosurfactant	0.0146	1.41×10^{-5}	0.0045	4.34×10^{-6}
H_2O	32.4128	1.8007	10	0.5556
EtOH	9.164	0.1989	1.975	0.0429

1. ซิลิกา GBST

จากปริมาณ TEOS 0.005 โมล จะได้ SiO_2 0.005 โมล

คิดเป็น SiO_2 = 0.005 x 60.0843 = 0.3004 g

จากปริมาณ APTES 0.005 โมล จะได้ ($R\text{-}SiO_{1.5}$) 0.005 โมล

คิดเป็น $R\text{-}SiO_{1.5}$ = 0.005 x 110.186 = 0.5509 g

และจากปริมาณ APTES 0.0252 โมล คือมีหมู่ $C_3H_6NH_3^+$ = 0.005 x 58.1028 = 0.2905 g

ปริมาณ BS 1.4×10^{-5} โมล = 1.4×10^{-5} x 1035.34 = 0.0145 g

น้ำหนักรวมของซิลิกาคือ = 0.3004 + 0.5509 + 0.0145 = 0.8658 g

น้ำหนักรวมของสารอินทรีย์คือ = 0.2905 + 0.0145 = 0.305 g

ดังนั้นมีสารอินทรีย์ในซิลิกา = (0.305/0.8658) x 100 = 35.23 %

2. ซิลิกา GBSV

จากปริมาณ TEOS 0.0081 โมล จะได้ SiO_2 0.0081 โมล

คิดเป็น SiO_2 = 0.0081 x 60.0843 = 0.4867 g

จากปริมาณ APTES 0.0012 โมล จะได้ ($R\text{-}SiO_{1.5}$) 0.0012 โมล

คิดเป็น $R\text{-}SiO_{1.5}$ = 0.0012 x 110.186 = 0.1322 g

และจากปริมาณ APTES 0.0012 โมล คือมีหมู่ $C_3H_6NH_3^+$ = 0.0012 x 58.1028 = 0.0697 g

ปริมาณ BS 4.3×10^{-6} โมล = 4.3×10^{-6} x 1035.34 = 4.4563×10^{-3} g

น้ำหนักรวมของซิลิกาคือ = $0.4867 + 0.1322 + 4.4563 \times 10^{-3}$ = 0.6278 g

น้ำหนักรวมของสารอินทรีย์คือ = $0.0697 + 4.4563 \times 10^{-3}$ = 0.0743 g

ดังนั้นมีสารอินทรีย์ในซิลิกา = (0.0743/0.6278) x 100 = 11.83 %

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข. ผลการทดลองการศึกษาการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยซิลิกาเบื้องต้น

ตารางที่ ผ.3 ค่าแรงตึงผิวของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพหลังผ่านการสกัดเป็นเวลา 3 ชั่วโมง และ 1 วัน

ซิลิกา	ค่าแรงตึงผิว (mN/m)							
	3 ชั่วโมง				1 วัน			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	เฉลี่ย	sd	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	เฉลี่ย	sd
ค่าเริ่มต้น	33.90	32.28	33.09	1.15	33.18	32.77	32.98	0.29
GC	33.69	32.89	33.29	0.57	32.00	27.53	29.77	3.16
GCc	33.94	34.01	33.98	0.05	31.03	31.00	31.02	0.02
GS	22.38	22.60	22.49	0.16	22.48	22.37	22.43	0.08
GSA	34.26	34.09	34.18	0.12	34.26	34.08	34.17	0.13
GSAc	34.91	35.37	35.14	0.33	35.50	35.03	35.27	0.33

ตารางที่ ผ .4 ค่าแรงตึงผิวของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ความเข้มข้น 100 mg/L หลังจากทำการสกัดด้วยซิลิกาชนิดต่าง ๆ

ซิลิกา	ค่าแรงตึงผิว (mN/m)					
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	เฉลี่ย	sd
ค่าเริ่มต้น	40.96	37.82	39.94	37.43	39.04	1.69
GC	34.27	31.35	31.33	28.10	31.26	2.52
GCc	33.64	39.06	37.24	41.00	37.74	3.13
GS	30.39	30.99	31.63	30.52	30.88	0.56
GSc	40.56	39.12	40.76	39.24	39.92	0.86
GSA	31.56	31.78	29.95	31.70	31.25	0.87
GSAc	42.30	43.01	42.37	44.47	43.04	1.01

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ผ.5 ค่าแรงตึงผิวของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ความเข้มข้น 50 mg/L หลังจากทำการสกัดด้วยซิลิกาชนิดต่าง ๆ

ซิลิกา	ค่าแรงตึงผิว (mN/m)					
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	เฉลี่ย	sd
ค่าเริ่มต้น	40.09	40.90	41.77	41.71	41.12	0.79
GC	33.45	34.53	33.85	33.19	33.76	0.58
GCc	39.34	40.92	43.93	44.20	42.10	2.36
GS	33.85	34.81	38.88	39.40	36.74	2.81
GSc	44.54	39.90	42.90	42.66	42.50	1.92
GSA	31.63	32.27	32.02	31.68	31.90	0.30
GSAc	42.84	46.23	45.85	43.76	44.67	1.63

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ค. ผลการวิเคราะห์ผลทางสถิติ

1. การวิเคราะห์ Q test

ใช้ Q test เพื่อทำการ ตรวจสอบข้อมูลสงสัย เนื่องจากมีควา มคลาดเคลื่อนมากเกินไป โดยหากค่า $Q_{คำนวณ} > Q_{วิกฤต}$ ที่ความเชื่อมั่นต่าง ๆ จะถือว่าข้อมูลนั้นไม่เข้าพวก (outlier) และสามารถตัดข้อมูลนั้นได้

ตารางที่ ผ.6 ค่า $Q_{วิกฤต}$ ที่ความเชื่อมั่น 90% 95% และ 99%

จำนวนครั้งของการวิเคราะห์ (N)	ระดับความเชื่อมั่น		
	Q_{90}	Q_{95}	Q_{99}
3	0.941	0.970	0.994
4	0.765	0.829	0.926
5	0.642	0.710	0.821
6	0.560	0.625	0.740
7	0.507	0.568	0.680
8	0.468	0.526	0.634
9	0.437	0.493	0.598
10	0.412	0.466	0.568
15	0.338	0.384	0.475
20	0.300	0.342	0.425
25	0.277	0.317	0.393
30	0.260	0.298	0.372

การคำนวณค่า $Q_{คำนวณ}$ สามารถคำนวณได้จาก

$$Q_{คำนวณ} = \frac{ความห่าง}{พิสัย} \qquad (ผ.3)$$

เมื่อ ความห่าง คือ ผลต่างระหว่างค่าที่สงสัยกับค่าที่ใกล้เคียงกัน

พิสัย คือ ผลต่างระหว่างค่าสูงสุดกับต่ำสุด

ตัวอย่าง จากตารางที่ 3.8 ชุดข้อมูลซิลิกา GCc วันที่ 1 มีค่าแรงตึงผิวเท่ากับ 46.14, 46.39, 46.47 และ 48.43 โดยข้อมูลที่สงสัยคือ 48.43

$$q_{คำนวณ} = \frac{48.43-46.47}{48.43-46.14} = 0.856$$

เนื่องจากที่ความเชื่อมั่น 90% N = 4 จะได้ $Q_{วิกฤต}$ = 0.765 และ 0.856>0.765 ดังนั้นที่ความเชื่อมั่น 90% ข้อมูล 48.43 จัดเป็นข้อมูลไม่เข้าพวก

2. การวิเคราะห์ One-Way ANOVA (F test)

ใช้การวิเคราะห์ One-Way ANOVA ในการตรวจสอบผลการทดลองที่ได้ในแต่ละวันว่าแตกต่างกันหรือไม่ ซึ่งหากค่า $f_{คำนวณ} > f_{วิกฤต}$ ที่ความเชื่อมั่นต่าง ๆ แสดงว่าข้อมูลที่ได้ในแต่ละวันมีผลแตกต่างกัน

ตารางที่ ผ.7 ค่า $f_{วิกฤต}$ ที่ความเชื่อมั่น 95%

	v_1 = 2	3	4	5	6	7	8	9
v_2 = 2	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.35	19.37	19.38
3	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.85	8.81
4	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.09	6.04	6.00
5	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.77
6	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10
7	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68
8	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39
9	4.26	3.86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18

ตารางที่ ผ.8 ตาราง ANOVA

แหล่งการแปรผัน (SOV)	ผลบวกกำลังสอง (SS)	ระดับขั้นความเสรี (DF)	ค่าเฉลี่ยของผลบวกกำลังสอง (MS)	$f_{คำนวณ}$
วิธีปฏิบัติการ (Treatment)	SSTR	k-1	$MSTR = \frac{SSE}{k-1}$	$f_{คำนวณ} = \frac{MSTR}{MSE}$
ความคลาดเคลื่อน (Error)	SSE	N-k	$MSE = \frac{SSE}{N-k}$	
ทั้งหมด (Total)	SST	N-1		

เมื่อ k คือ จำนวนชุดข้อมูล

N คือ จำนวนข้อมูลทั้งหมด

v_1 คือ k-1

v_2 คือ N-k

SST คือ การแปรผันโดยรวมทั้งหมด

SSTR คือ การแปรผันที่เกิดจาก Treatment ต่างกัน

SSE คือ การแปรผันที่เกิดภายในกลุ่ม Treatment เดียวกัน

จากผลการทดลองในตารางที่ 3.8 เมื่อนำค่าแรงตึงผิวเริ่มต้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพทั้ง 3 วันมาเปรียบเทียบกันได้ผลดังตารางที่ ผ.9

ตารางที่ ผ.9 ตาราง ANOVA ของการเปรียบเทียบค่าแรงตึงผิวเริ่มต้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพทั้ง 3 วัน

แหล่งการแปรผัน (SOV)	ผลบวกกำลังสอง (SS)	ระดับขั้นความเสรี (DF)	ค่าเฉลี่ยของผลบวกกำลังสอง (MS)	$f_{คำนวณ}$
วิธีปฏิบัติการ (Treatment)	1.393	2	0.697	0.290
ความคลาดเคลื่อน (Error)	21.628	9	2.403	
ทั้งหมด (Total)	23.022	11		

เมื่อ $v_1 = 2$ และ $v_2 = 9$ ที่ความเชื่อมั่น 95% ได้ค่า $F_{วิกฤต}$ เท่ากับ 4.26 เนื่องจาก $f_{คำนวณ} < f_{วิกฤต}$ ดังนั้นข้อมูลที่ได้จากการทดลองทั้ง 3 วัน ไม่มีความแตกต่างกัน

3. การวิเคราะห์ Independent-Samples T test

ใช้การวิเคราะห์ Independent-Samples T test ในการตรวจสอบค่าแรงตึงผิวที่ได้หลังจากการสกัดด้วยซิลิกาชนิดต่าง ๆ เทียบกับค่าเริ่มต้นว่ามีความแตกต่างกันหรือไม่ โดยได้ผลการวิเคราะห์ของซิลิกาแต่ละชนิดดังนี้

ตารางที่ ผ.10 ผลการวิเคราะห์ Independent-Samples T test เปรียบเทียบระหว่างค่าแรงตึงผิวก่อนและหลังสกัดด้วยซิลิกา GCc

GCc		Levene's Test for Equality of Variances		T-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	99% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
ค่าแรงตึงผิว	Equal variances assumed	1.220	0.281	-6.914	22	0.000	-3.5433	0.51248	-4.98788	-2.09878
	Equal variances not assumed			-6.914	19.861	0.000	-3.5433	0.51248	-5.00256	-2.08411

มหาวิทยาลัย
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ผ.11 ผลการวิเคราะห์ Independent-Samples T test เปรียบเทียบระหว่างค่าแรงตึงผิวก่อนและหลังสกัดด้วยซิลิกา GSc

GSc		Levene's Test for Equality of Variances		T-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	99% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
ค่าแรงตึงผิว	Equal variances assumed	3.602	0.106	-1.754	6	0.130	-1.8325	1.04488	-5.70630	2.04130
	Equal variances not assumed			-1.754	3.350	0.130	-1.8325	1.04488	-7.34498	3.67998

ตารางที่ ผ.12 ผลการวิเคราะห์ Independent-Samples T test เปรียบเทียบระหว่างค่าแรงตึงผิวก่อนและหลังสกัดด้วยซิลิกา GCAc

GCAc		Levene's Test for Equality of Variances		T-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	99% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
ค่าแรงตึงผิว	Equal variances assumed	0.032	0.859	-1.789	22	0.087	-1.0583	0.59168	-2.72613	0.60946
	Equal variances not assumed			-1.789	22.000	0.087	-1.0583	0.59168	-2.72613	0.60947

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ผ.13 ผลการวิเคราะห์ Independent-Samples T test เปรียบเทียบระหว่างค่าแรงตึงผิวก่อนและหลังสกัดด้วยซิลิกา GSAc

GSAc		Levene's Test for Equality of Variances		T-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	99% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
ค่าแรงตึงผิว	Equal variances assumed	1.656	0.212	-2.839	22	0.010	-1.4525	0.51156	-2.89446	-0.01054
	Equal variances not assumed			-2.839	19.805	0.010	-1.4525	0.51156	-2.90954	0.00454

ตารางที่ ผ.14 ผลการวิเคราะห์ Independent-Samples T test เปรียบเทียบระหว่างค่าแรงตึงผิวก่อนและหลังสกัดด้วยซิลิกา GSAae

GSAae		Levene's Test for Equality of Variances		T-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	99% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
ค่าแรงตึงผิว	Equal variances assumed	0.003	0.958	-3.528	22	0.002	-2.2058	0.62515	-3.96798	-0.44369
	Equal variances not assumed			-3.528	21.749	0.002	-2.2058	0.62515	-3.96988	-0.44178

กรณีที่ค่า Probability Value (p-value) ของ Levene's Test (Sig.) มีค่าน้อยกว่า 0.01 สามารถสรุปว่าค่าความแปรปรวนของข้อมู ลทั้ง 2 ชุดไม่เท่ากัน ดังนั้นการทดสอบ Independent Samples Test จึงต้องพิจารณาที่ค่า p-value (Sig. 2-tailed) จาก Equal variances not assumed ในกรณีที่ข้อมูลมีความแปรปรวนเท่ากันให้พิจารณาค่า p-value ของ Independent Samples Test จาก Equal variances assumed ซึ่งเมื่อค่า p-value มีค่าน้อยกว่า 0.01 จะสามารถสรุปได้ว่าข้อมูล ที่เปรียบเทียบกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 99%

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้วิจัย

นายภูริต สงวนศักดิ์ เกิดเมื่อวันที่ 21 มิถุนายน พ.ศ. 2537 สำเร็จการศึกษาระดับประถมศึกษาจากโรงเรียนเทศบาล 3 (บ้านบ่อ) จังหวัด กาญจนบุรี เมื่อปี พ.ศ. 2549 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนต้นจากโรงเรียนวิสุทธรังษี จังหวัด กาญจนบุรี เมื่อปี พ .ศ. 2552 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย แผนกศักยภาพวิทยาศาสตร์-คณิตศาสตร์ จากโรงเรียนวิสุทธรังษี จังหวัด กาญจนบุรี เมื่อปี พ.ศ. 2555 และได้เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้หลังจบการศึกษา 100 หมู่ 1 ตำบล ท่าล้อ อำเภอ ท่าม่วง จังหวัด กาญจนบุรี 71000 อีเมล์ game_hahaa@hotmail.com

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย