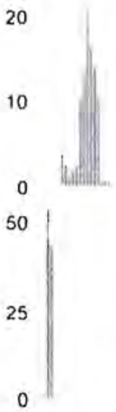
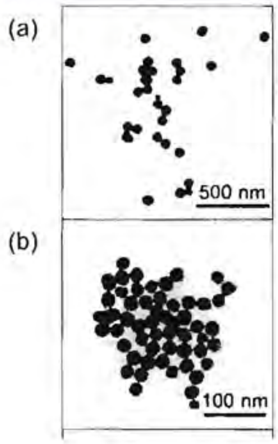
วช.
NRCT

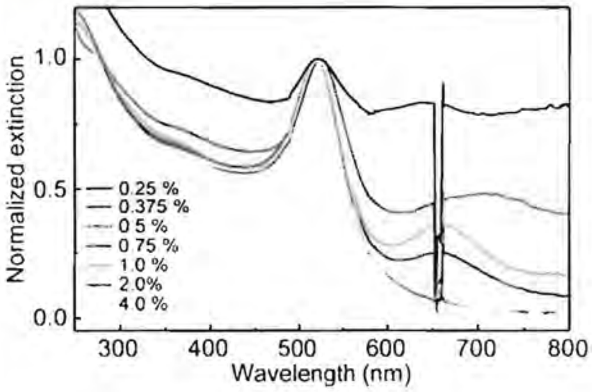
รายงานการวิจัย

อุปกรณ์รับรู้เชิงแสงสำหรับตรวจสอบสภาพสุญญากาศของบรรจุภัณฑ์ที่ทำงานโดยหลักการสะท้อนแสง ซึ่งสามารถตรวจสอบสภาพสุญญากาศโดยการมองด้วยตาเปล่า

Optical Sensor for the Determination of Vacuum in Packaging Working Based on Reflection of Light which can be monitored via Naked Eyes







รองศาสตราจารย์ ดร. สนอง เอกสิทธิ์

รองศาสตราจารย์ ชูชาติ ธรรมเจริญ

นายทวีศักดิ์ จันทร์ดวง

นายอดิศักดิ์ ถือพลอย

ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยประเภทงบประมาณประจำปีงบประมาณ 2552

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.)

สรุปผลการวิจัย
สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

1. **ชื่อโครงการวิจัย (ภาษาไทย)** อุปกรณ์รับรู้เชิงแสงสำหรับตรวจสอบสภาพสุญญากาศของบรรจุภัณฑ์ที่ทำงานโดยหลักการสะท้อนแสงซึ่งสามารถตรวจสอบสภาพสุญญากาศโดยการมองด้วยตาเปล่า

   (ภาษาอังกฤษ) Optical Sensor for the Determination of Vacuum in Packaging Working Based on Reflection of Light which can be Monitored via Naked Eyes

2. **คณะผู้วิจัย** หน่วยงานที่สังกัด หมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ E-mail

2.1 รองศาสตราจารย์ ดร. สนอง เอกสิทธิ์
หน่วยปฏิบัติการวิจัยอุปกรณ์รับรู้ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
254 ถนนพญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330
โทรศัพท์ 0-2218-7585 โทรสาร 0-2254-1309
E-mail: sanong.e@chula.ac.th Website: www.sru.research.chula.ac.th

2.2 รองศาสตราจารย์ ชูชาติ ธรรมเจริญ
หน่วยปฏิบัติการวิจัยอุปกรณ์รับรู้ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
254 ถนนพญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330
โทรศัพท์ 0-2218-7585 โทรสาร 0-2254-1309
E-mail: chuchaat.t@chula.ac.th; Website: www.sru.research.chula.ac.th

2.3 นายทวีศักดิ์ จันทร์ดวง
งานพัฒนาและบริการเครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
254 ถนนพญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330
โทรศัพท์ 0-2218-5511 โทรสาร 0-2218-5000

2.4 นายอดิศักดิ์ ถือพลอย
สถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
254 ถนนพญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330
โทรศัพท์ 0-2218-4209 โทรสาร 0-2218-4213
Website: www.material.chula.ac.th

4. ความเป็นมา และปัญหาในการวิจัย

นมวัวเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพและมีความจำเป็นต่อสุขภาพ โดยเฉพาะสำหรับเด็กในวัยเจริญเติบโตเนื่องจากโปรตีนในนมวัวนั้นมีกรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับมนุษย์ ทั้ง 10 ชนิด ได้แก่อาร์จินีน ฮิสติดีน ไอโซลิวซีน ไลซีน ลิวซีน เมไทโอนีน เฟนิลอะลานีน ทรีโอนีน ทริปโตเฟน และวาลีน น้ำนมวัวจึงเป็นผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรที่มีคุณค่าสำหรับโภชนาการของมนุษย์ โดยเฉพาะกับเด็ก แต่บ่อยครั้งน้ำนมมักถูกปลอมปนด้วยวิธีการต่างๆ เช่นการผสมน้ำ แป้งมัน แป้งข้าวโพด เมลามีน เจลาติน ปูนขาว หรือสารอื่นๆลงไปเพื่อลดต้นทุนในการผลิต ทำให้นมที่มาถึงผู้บริโภคมีปริมาณโปรตีนที่น้อยกว่ามาตรฐาน ดังเช่นการเกิดวิกฤติการณ์น้ำนมปลอมในปี พ.ศ. 2552 ซึ่งทำให้มีรายงานข่าวว่างบจัดสรร 70% นั้นสูญไปกับน้ำนมที่ถูกปลอมปน และรายงานข่าวที่เกี่ยวกับเด็กนักเรียนที่ได้รับอันตรายจากน้ำนมปลอมเป็นจำนวนมาก และแม้ว่าจะมีการตรวจสอบจากภาครัฐแต่การตรวจสอบนั้นก็ไม่ทั่วถึง เพราะว่าวิธีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในปัจจุบัน เช่นวิธีของเจลดาลห์ (kjeldahl method) หรือวิธีย้อมติดสี (dye binding method) นั้นต้องอาศัยเครื่องมือที่มีราคาแพงและขั้นตอนที่ซับซ้อนจึงจำเป็นต้องทำในห้องปฏิบัติการเท่านั้น ซึ่งผู้บริโภคไม่สามารถวิเคราะห์ได้เอง แต่ต้องเชื่อตามที่ระบุไว้บนฉลากที่ผู้ผลิตระบุไว้ให้โดยที่ไม่อาจทราบได้เลยว่าองค์ประกอบของนมที่ตนเองบริโภคนั้นตรงกับบนฉลากหรือไม่

นอกจากด้านอันตรายที่เกิดกับผู้บริโภคแล้ว การที่ไม่วิธีการตรวจสอบน้ำนมปลอมจากฝั่งผู้บริโภคยังทำให้เกิดความเชื่องช้าในกระบวนการเอาผิดกับผู้ผลิต เพราะรายงานจากโรงเรียนว่านมถูกปลอมปนนั้นเป็นรายงานจากความรู้สึก ทำให้ต้องอาศัยการเข้าไปตรวจจากทางการอีกครั้งหนึ่งซึ่งเป็นโอกาสให้ผู้ผลิตนั้นหลบหนีไปได้ แต่ถ้าหากมีวิธีการตรวจสอบน้ำนมที่น่าเชื่อถือที่ผู้บริโภคสามารถทำการวิเคราะห์เองได้ก็จะสามารถเป็นหลักฐานในการเอาผิดผู้กระทำผิดได้ทันที

ในปัจจุบัน นาโนเทคโนโลยีพัฒนาไปมาก มีงานวิจัยจำนวนมากเกี่ยวกับการนำอนุภาคนาโนของทองมาพัฒนา และปรับปรุงประสิทธิภาพ และเพิ่มคุณสมบัติพิเศษลงไป จนสามารถนำอนุภาคนาโนของทองมาใช้เป็นอุปกรณ์รับรู้เชิงแสง (optical sensor) สำหรับการตรวจวัดเซลล์มะเร็ง, ตรวจโรคอัลไซเมอร์, ตรวจวัดตะกั่ว, ตรวจวัดเมลามีน, ฯลฯ ได้ ซึ่งจากการค้นคว้าในงานวิจัยเหล่านั้นทำให้ผู้วิจัยเห็นความเป็นไปได้ที่จะพัฒนาอนุภาคนาโนของทองเพื่อให้สามารถนำมาใช้เป็นอุปกรณ์รับรู้เชิงแสงเพื่อให้ตรวจวัดปริมาณโปรตีนโดยสังเกตผลด้วยตาเปล่า ซึ่งเป็นวิธีการที่ง่ายที่สุดสำหรับการนำไปให้ผู้บริโภคใช้งาน

นอกจากวัตถุประสงค์ในการปกป้องผู้บริโภคแล้ว กรรมวิธีวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่ได้พัฒนาขึ้นยังสามารถนำมาใช้เป็นการคัดแยกเบื้องต้น (screening) สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนอย่างแม่นยำในห้องปฏิบัติการได้อีกด้วย เนื่องจากกรรมวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถบอกปริมาณโปรตีนได้อย่างคร่าว ๆ อย่างรวดเร็ว การนำมาใช้คัดแยกตัวอย่างที่ไม่จำเป็นต้องวิเคราะห์อย่างละเอียดออกไปก็จะทำให้ลดตัวอย่างที่ต้องวิเคราะห์ลง ซึ่งเป็นการลดทั้งเวลาและค่าใช้จ่ายที่ต้องใช้ทำให้การวิเคราะห์นั้นมีประสิทธิภาพมากขึ้น

5. วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. สร้างและพัฒนานวัตกรรมอุปกรณ์รับรู้สำหรับตรวจสอบสภาวะสุญญากาศภายในบรรจุภัณฑ์ที่ทำงานโดยหลักการสะท้อนกลับหมดของแสง ซึ่งมีขนาดเล็กสามมารถใส่ลงในบรรจุภัณฑ์ได้โดยไม่ต้องมีการเปลี่ยนแปลงกระบวนการผลิต เพื่อใช้ในการตรวจสอบสภาพสุญญากาศของบรรจุภัณฑ์ โดยการมองด้วยตาเปล่า โดยไม่ต้องมีอุปกรณ์เพิ่มเติมใดๆ
2. พัฒนานวัตกรรมอุปกรณ์รับรู้ที่สามารถนำไปใช้ในการตรวจสอบการเก็บรักษาผลผลิตภัณฑ์ภายใต้สภาวะสุญญากาศ โดยเฉพาะบรรจุภัณฑ์สำหรับสินค้าทางการเกษตรที่มีการเพิ่มมูลค่าโดยการเก็บรักษา ขาย หรือขนส่งภายใต้ระบบสุญญากาศ รวมไปถึงการตรวจสอบการเก็บรักษาเมล็ดพันธ์หรือผลิตผลทางการเกษตรให้สามารถเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลานานภายใต้ระบบสุญญากาศ
3. พัฒนานวัตกรรมนวัตกรรมอุปกรณ์รับรู้เชิงแสงที่มีการใช้เทคโนโลยีระดับนาโนเมตรของทองคำหรืออนุภาคระดับนาโนเมตรของเงินช่วยในการเพิ่มประสิทธิภาพด้านการตรวจสอบด้วยตาเปล่าของอุปกรณ์รับรู้

6. วิธีดำเนินการวิจัย

วิธีดำเนินการวิจัย	ผู้รับผิดชอบ
1. พัฒนากรรมวิธีการสังเคราะห์ tetrachloroauric acid (HAuCl4) เพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นสำหรับการผลิตอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองคำ	สนอง / ชูชาติ
2. พัฒนานวัตกรรม Green Chemistry สำหรับการสังเคราะห์อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองคำที่เน้นการใช้ผลผลิตทางการเกษตรเป็นตัวรีดิวซ์สำหรับการสังเคราะห์อนุภาคนาโน	สนอง / ชูชาติ
3. พัฒนากรรมวิธีการสังเคราะห์อนุภาคโกล์ดนาโนปริมาณมากและมีความเสถียรสูงเพื่อใช้ในสร้างเป็นอุปกรณ์รับรู้เชิงแสง	สนอง / ชูชาติ
4. ศึกษารูปร่าง ขนาด และวิเคราะห์สมบัติเชิงแสงของอนุภาคนาโนของทองคำที่สังเคราะห์ได้	สนอง / ชูชาติ
5. พัฒนาต้นแบบชุดตรวจสอบน้ำนมด้อยคุณภาพและน้ำนมปลอมโดยใช้สมบัติเชิงแสงของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองคำ	สนอง / ชูชาติ
6. เขียนรายงานความก้าวหน้า และเสนอผลงานในที่ประชุมทางวิชาการ	สนอง / ชูชาติ

สถานที่ทำการวิจัย

1 หน่วยปฏิบัติการวิจัยอุปกรณ์รับรู้ (Sensor Research Unit)
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

7. ผลการวิจัย / ข้อค้นพบ

7.1 บทนำ

โครงการวิจัยนวัตกรรมการผลิตอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองคำด้วยนาโนเทคโนโลยีที่ยั่งยืนและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม: ซึ่งยึดหลัก นาโนเทคโนโลยีภายใต้ "หลักปรัชญาเศรษฐกิจพอเพียง" นี้จะได้มีการน้อมนำ "หลักปรัชญาเศรษฐกิจพอเพียง" มาใช้เป็นแนวทางปฏิบัติในการพัฒนานาโนเทคโนโลยีที่ยั่งยืนและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมเพื่อการผลิตอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองคำ เพื่อทดแทนการนำเข้าจากต่างประเทศรวมไปถึงการเพิ่มศักยภาพเพื่อให้ภาคอุตสาหกรรมของไทยแข่งขันได้ในระดับนานาชาติ โดยโครงการวิจัยนี้เป็นโครงการวิจัยต่อเนื่องของคณะนักวิจัยด้านวัสดุนาโนและนาโนเทคโนโลยี (Nanomaterials and Nanotechnology) โดยคณะนักวิจัยได้พัฒนาองค์ความรู้ต่อเนื่องจากองค์ความรู้เดิมด้านการผลิตวัสดุนาโนด้วยกระบวนการทางเคมีบนพื้นฐานของ Borohydride Chemistry การพัฒนา นาโนเทคโนโลยียั่งยืนที่มิตรกับสิ่งแวดล้อม ต่อเนื่องนี้จะมีส่วนในการพัฒนาและเพิ่มศักยภาพการแข่งขันของภาคอุตสาหกรรมของไทย กิจกรรมการวิจัยของโครงการนี้มีกิจกรรมหลักคือ

1. เน้นการพัฒนานาโนเทคโนโลยีระดับสูงที่มุ่งเน้นการพึ่งตนเอง

2. เน้นการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรธรรมชาติในประเทศ โดยการใช้สารจากธรรมชาติมาเป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตอนุภาคระดับนาโนเมตร
3. เน้นการพัฒนานาโนเทคโนโลยีที่ไม่ใช้และไม่สร้างสารเคมีตกค้างที่เป็นพิษ ไม่มีการผลิตของเสียที่เป็นพิษกับสิ่งแวดล้อม
4. เน้นการพัฒนานวัตกรรมที่ไม่ยุ่งยาก สามารถถ่ายทอดสู่ผู้ใช้ได้โดยไม่ต้องลงทุนสูง ใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ที่หาได้ในประเทศ
5. มีการบริหารองค์ความรู้ทั้ง ก่อน-ระหว่าง-หลังการวิจัย โดยเน้นการประยุกต์ใช้องค์ความรู้ที่มีอยู่แล้ว องค์ความรู้ในระดับนานาชาติที่มีเผยแพร่ต่อสาธารณะ (บทความทางวิชาการและสิทธิบัตร) การค้นคว้าข้อมูลสิทธิบัตรเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ รวมไปถึงการเผยแพร่องค์ความรู้ที่พัฒนาขึ้นจากโครงการนี้ให้เป็นประโยชน์ต่อคนไทยให้สูงที่สุด
6. การสร้างและพัฒนาบุคลากรรุ่นใหม่ที่มีความรู้ ความเข้าใจ และมีศักยภาพสูงในการพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเพื่อแก้ปัญหาที่เป็นปัญหาของประเทศในอนาคต

เมื่อโครงการดำเนินลุล่วงและประสบความสำเร็จแล้ว คณะผู้วิจัยคาดว่าจะสามารถพัฒนานาโนเทคโนโลยียั่งยืนที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมที่พัฒนาโดยคณะนักวิจัยชาวไทย สามารถผลิตอนุภาคระดับนาโนของทองคำสำหรับการประยุกต์ใช้ในประเทศ โดยเฉพาะการประยุกต์ใช้ในการพัฒนาอุปกรณ์รับรู้ ทดแทนการนำเข้าอนุภาคระดับนาโนเมตรจากต่างประเทศ การผลิตเพื่อส่งออกและแข่งขันกับตลาดต่างประเทศ รวมไปถึงการพัฒนานวัตกรรมและผลิตภัณฑ์ใหม่ๆ ต่อเนื่องจากการมีวัตถุดิบที่สำคัญซึ่งสามารถผลิตได้เองในประเทศ ซึ่งจะนำไปสู่การพัฒนาศักยภาพของภาคอุตสาหกรรมของไทยและการประยุกต์ใช้นาโนเทคโนโลยีของประชาชนทั่วไป

นาโนเทคโนโลยีเป็นศาสตร์เกี่ยวกับการสร้าง ประยุกต์ และพัฒนานวัตกรรมจากวัสดุที่มีขนาดอนุภาคในมิติใดมิติหนึ่งอยู่ในระดับนาโนเมตร (1-100 นาโนเมตร) วัสดุนาโนเป็นสารตั้งต้นหลักตัวหนึ่งในการพัฒนาผลิตภัณฑ์และเทคโนโลยีต่อเนื่องที่ใช้นาโนเทคโนโลยีเป็นพื้นฐาน เทคโนโลยีและกรรมวิธีการผลิตหรือสังเคราะห์อนุภาคนาโนจึงเป็นเทคโนโลยีต้นน้ำของการพัฒนานาโนเทคโนโลยี กรรมวิธีการสังเคราะห์และผลิตอนุภาคนาโนที่มีประสิทธิภาพ (ความซับซ้อนของกรรมวิธีการผลิต เงื่อนไขที่ใช้ วัตถุดิบที่ใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิต ของเสียที่เกิดขึ้นและผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และต้นทุนการผลิต) จะเป็นสิ่งบ่งชี้ความเป็นไปได้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์นาโนต่อเนื่องในอนาคต

วัสดุนาโนที่ผลิตขึ้นโดยกรรมวิธีที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมและไม่มีการใช้สารเคมีที่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมในการผลิตจะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่เป็น green nanoparticles ซึ่งจะไม่มีปัญหาสำหรับการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต่อเนื่อง โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์ที่ต้องใช้กับมนุษย์และมีการสัมผัสร่างกายของมนุษย์ ในแง่ของภาคอุตสาหกรรม การใช้ green nanotechnology หรือ green nanoparticles ในกระบวนการผลิตสินค้าจะช่วยลดภาระด้านสิ่งแวดล้อมที่อาจมีผลกระทบต่อสังคม นอกจากนั้นยังเป็นการตัดภาระการกำจัดสารพิษหรือ

สารที่เหลือจากกระบวนการผลิต การใช้เทคโนโลยีที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมในการผลิตสินค้าสามารถนำมาใช้เป็นจุดขายหรือโฆษณาผลิตภัณฑ์ได้อีกด้วย

การสังเคราะห์อนุภาคระดับนาโนเมตรของโลหะ โดยทั่วไปแล้วเป็นปฏิกิริยาการเปลี่ยนไอออนของโลหะ (metal Ion) ให้เป็นโลหะ (metal) โดยใช้กระบวนการรีดิวซ์เพื่อเปลี่ยน positive charge metal ion ให้เป็น zerovalent metal โดยการรีดักชันด้วยสารเคมี ด้วยกระบวนการทางไฟฟ้า การกระตุ้นโดยใช้แสง และวิธีอื่นๆ ไม่ว่าจะใช้กระบวนการใดๆ ก็ตามการสังเคราะห์อนุภาคระดับนาโนเมตรของโลหะจากไอออนของโลหะจะเกี่ยวข้องกับการให้อิเล็กตรอนกับไอออนของโลหะจนกลายเป็น zerovalent metal อย่างไรก็ตามอนุภาคระดับนาโนเมตรของโลหะนั้นมีขนาดเล็กมาก มีพื้นที่ผิวสูง และไม่เสถียร ทำให้มีแนวโน้มที่จะมารวมตัวกันกลายเป็นอนุภาคขนาดใหญ่ขึ้น การที่จะบังคับให้อนุภาคระดับนาโนเมตรดังกล่าวยังเป็นอนุภาคระดับนาโนเมตรอยู่ได้นั้นจะต้องมีการทำให้อนุภาคดังกล่าวมีเสถียรภาพ โดยการใช้สารอื่นๆ เข้าช่วยเพื่อป้องกันการรวมตัวกันของอนุภาคระดับนาโนเมตรให้เป็นอนุภาคที่ใหญ่ขึ้น

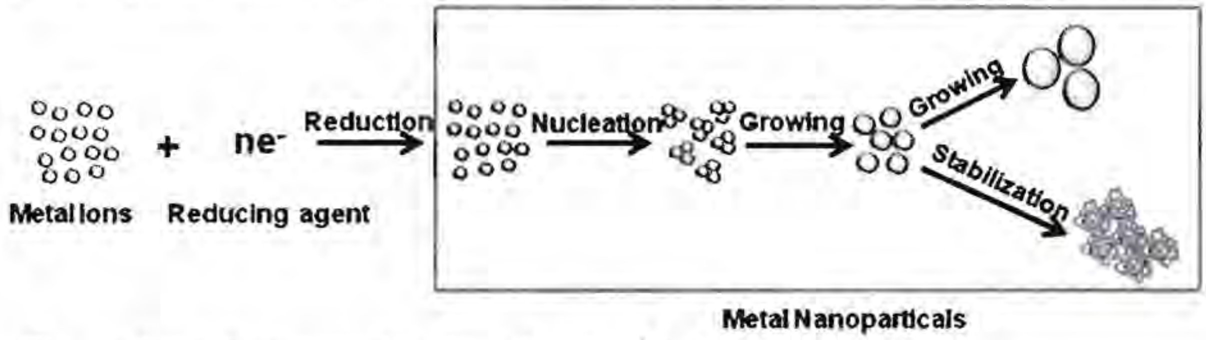
คณะนักวิจัยของหน่วยปฏิบัติการวิจัยอุปกรณ์รับรู้ ประสบความสำเร็จในการพัฒนาเทคโนโลยีการผลิต อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองคำ (gold nanoparticles) โดยใช้ borohydride chemistry โดยคอลลอยด์น้ำของอนุภาคระดับนาโนเมตรที่ผลิตได้เป็นคอลลอยด์ที่มีความเข้มข้นสูง มีความเสถียรสูง ทำให้สามารถนำไปใช้งานได้ในระดับอุตสาหกรรม แม้ว่า borohydride chemistry จะเป็นวิธีทางเคมีที่นิยมใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคระดับนาโนเมตรของโลหะ ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพดีและมีประสิทธิภาพสูง sodium borohydride ($NaBH_4$) ที่ใช้เป็นตัวรีดิวซ์ซึ่งเป็นตัวรีดิวซ์ที่รุนแรงและถือว่าเป็นสารที่เป็นอันตราย

คณะนักวิจัยจึงมีแนวคิดที่จะพัฒนาระบบการสังเคราะห์อนุภาคระดับนาโนเมตรของโลหะโดยใช้ระบบการสังเคราะห์ที่ใช้สารที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมเป็นตัวรีดิวซ์ เพื่อลดปัญหาด้านสิ่งแวดล้อมและลดสารก่อมลภาวะจากกระบวนการสังเคราะห์ โดยระบบการสังเคราะห์ที่จะพัฒนาขึ้นนี้เป็นระบบการสังเคราะห์ด้วยนาโนเทคโนโลยียั่งยืน (sustainable nanotechnology) หรือ นาโนเทคโนโลยีที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม (green nanotechnology) ที่เน้นใช้สารที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมที่สามารถผลิตได้เองในประเทศไทยเป็นตัวรีดิวซ์ โดยมีการปรับเงื่อนไขการเกิดปฏิกิริยา เช่น ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) อุณหภูมิ และความเข้มข้นของสารตั้งต้น เพื่อให้ได้เงื่อนไขการสังเคราะห์ที่มีประสิทธิภาพสูง ขั้นตอนการผลิตไม่ซับซ้อนสามารถใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ที่หาได้ในประเทศ ต้นทุนการผลิตต่ำกว่าระบบ borohydride chemistry และมีศักยภาพสูงในเชิงพาณิชย์

การสังเคราะห์อนุภาคระดับนาโนเมตรของโลหะมีค่าด้วยวิธีทางเคมี

การสังเคราะห์อนุภาคระดับนาโนเมตรของโลหะโดยวิธีการทางเคมี โดยทั่วไปแล้วเป็นปฏิกิริยาการเปลี่ยนไอออนของโลหะ (metal Ion) ให้เป็นโลหะ (metal) โดยใช้กระบวนการรีดิวซ์ (reducing agent) เพื่อเปลี่ยน positive charge metal ion ให้เป็น zerovalent metal โดยการรีดักชันด้วยสารเคมี ด้วยกระบวนการทางไฟฟ้า การกระตุ้นโดยใช้แสง และวิธีอื่นๆ ไม่ว่าจะใช้กระบวนการใดๆ ก็ตามการสังเคราะห์อนุภาคระดับนา

โนเมตรของโลหะจากไอออนของโลหะจะเกี่ยวข้องกับการให้อิเล็กตรอนกับไอออนของโลหะจนกลายเป็น zerovalent metal อย่างไรก็ตามอนุภาคระดับนาโนเมตรของโลหะนั้นมีขนาดเล็กมาก มีพื้นที่ผิวสูง และไม่เสถียร ทำให้มีแนวโน้มที่จะมารวมตัวกันกลายเป็นอนุภาคขนาดใหญ่ขึ้น การที่จะบังคับให้อนุภาคระดับนาโนเมตรดังกล่าวยังเป็นอนุภาคระดับนาโนเมตรอยู่ได้นั้นจะต้องมีการทำให้อนุภาคดังกล่าวมีเสถียรภาพ โดยการใช้สารอื่นๆ (stabilizer) เข้าช่วยเพื่อป้องกันการรวมตัวกันของอนุภาคระดับนาโนเมตรให้เป็นอนุภาคที่ใหญ่ขึ้น



รูปที่ 1 กลไกการเกิดอนุภาคระดับนาโนของโลหะโดยทั่วไปด้วยวิธีการทางเคมี

การสังเคราะห์อนุภาคระดับนาโนเมตรด้วยกรรมวิธีทางเคมีที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

เนื่องจากการสังเคราะห์อนุภาคในระดับนาโนเมตรของโลหะมีค่าหลายวิธี ต้องใช้กระบวนการ สารเคมี รวมถึงผลิตภัณฑ์ที่ได้ ที่เป็นอันตรายต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม รวมทั้งสิ้นเปลืองพลังงาน ส่งผลให้เกิดความพยายามในการปรับเปลี่ยนกระบวนการทางเคมีที่เป็นพิษกับสิ่งแวดล้อมในการสังเคราะห์อนุภาคระดับนาโนเมตรของโลหะมีค่าให้เป็นกระบวนการสังเคราะห์ที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม (Green synthesis) โดยมีแนวทางการเลือกใช้สารตั้งต้นหรือการออกแบบกระบวนการสังเคราะห์ที่สอดคล้องกับข้อกำหนดของ Green chemistry principles ดังนี้

1. การป้องกันการเกิดของเสียในกระบวนการสังเคราะห์ (prevent waste)
2. การออกแบบการสังเคราะห์จากระดับโมเลกุล เพื่อให้เกิดการใช้สารตั้งต้นที่มีประสิทธิภาพสูงสุด (atom economy)
3. การออกแบบกระบวนการสังเคราะห์เพื่อให้ได้สารที่ไม่เป็นพิษ (less hazardous chemical synthesis)
4. การออกแบบโครงสร้างของวัสดุระดับนาโนเมตรเพื่อให้ได้คุณสมบัติที่ไม่เป็นพิษ (designing safer chemicals)
5. การเลือกใช้ตัวทำละลายหรือตัวกลางที่ไม่เป็นพิษ (safer solvent/reaction media)
6. การออกแบบกระบวนการสังเคราะห์ให้มีการใช้พลังงานที่มีประสิทธิภาพสูงสุด (design for energy efficiency)
7. การเลือกใช้สารตั้งต้นที่สามารถสร้างขึ้นมาทดแทนได้ (renewable feedstocks)
8. การออกแบบกระบวนการสังเคราะห์เพื่อลดการก่อให้เกิดสารอนุพันธ์ที่เป็นพิษ (reduce derivatives)

9. การเลือกใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเพื่อเพิ่มการเปลี่ยนสารตั้งต้นให้เป็นสารผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ (catalysis)
10. การลดสารที่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อมที่มีการปลดปล่อยออกมาจากวัสดุระดับนาโนเมตรและจากการประยุกต์ใช้วัสดุระดับนาโนเมตร (design for degradation/design for end of life)
11. การติดตามการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการสังเคราะห์เพื่อนำข้อมูลไปใช้ในการปรับเปลี่ยนสภาวะในการทดลองเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ (real-time monitoring and process control)
12. การเลือกใช้วัสดุที่มีขนาดระดับนาโนเมตรร่วมกับวัสดุที่มีขนาดระดับไมโครเมตรเพื่อลดการปลดปล่อยสารที่เป็นอันตรายออกสู่สิ่งแวดล้อม (inherently safer chemistry)

โดยภาพรวมแล้วระบบ green chemistry คือ ระบบการผลิตทางเคมีที่มีการกำจัด หรือ การลดการใช้ หรือ ลดการก่อให้เกิดสารเคมีที่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม รวมถึงการลดการใช้พลังงานหรือใช้อย่างคุ้มค่าที่สุดซึ่งในงานวิจัยนี้ได้ออกแบบการทดลองให้สอดคล้องกับแนวคิดในข้างต้นรวมทั้ง พยายามหาวัตถุดิบที่ผลิตหรือสังเคราะห์เองได้ภายในประเทศ วิธีการในการสังเคราะห์อนุภาคระดับนาโนเมตรของโลหะมีหลากหลายวิธี วิธีการที่เป็นที่นิยมและง่ายต่อการขยายขนาดการผลิตไปสู่เชิงพาณิชย์ คือ การรีดิวซ์ด้วยสารเคมี โดยคณะผู้วิจัยจะพยายามใช้สารที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมแทนสารตั้งต้นที่ใช้ทั่วไปทั้งหมด ซึ่งองค์ประกอบหลักที่ใช้ในการสังเคราะห์ได้แก่

1. โลหะตั้งต้น (metal source)
2. ตัวรีดิวซ์ (reducing agent) และ การเพิ่มประสิทธิภาพของตัวรีดิวซ์ (enhancement of reducing efficiency of reducing agent
3. สารช่วยเสถียร (stabilizer)

การสังเคราะห์เกลือของทองคำ

งานวิจัยนี้คณะนักวิจัยเตรียมไอออนของทองคำขึ้นเองเพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองคำ โดยการละลายของโลหะทองคำบริสุทธิ์ (~99.99%) ในสารละลายกรด ที่เหมาะส่งผลให้มีต้นทุนในการสังเคราะห์อนุภาคระดับนาโนเมตรของโลหะมีค่าเหล่านี้ ต่ำกว่าการใช้เกลือของโลหะที่มีขายในเชิงพาณิชย์

การสังเคราะห์เกลือของโลหะทองในงานวิจัยนี้ได้ทำการสังเคราะห์ให้อยู่ในรูปของกรดเตตระคลอโรออริก ($HAuCl_4$) โดยทำการละลายโลหะทองลงไปในสารละลายกรดกัดทอง (Aqua regia) ประกอบด้วยกรดไนตริกต่อกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นในสัดส่วนโดยปริมาตร 1:3 หลังจากที่โลหะละลายจนหมดแล้วจะได้สารละลายเกลือของทองหรือ $HAuCl_4$ ต่อมานำสารละลายที่ได้มาปรับปริมาตรให้ได้ตามต้องการโดยปฏิกิริยาการเกิด $HAuCl_4$ แสดงดังสมการ

$$Au\,(s) + 3\,NO_3^-\,(aq) + 6\,H^+\,(aq) \longrightarrow Au^{3+}\,(aq) + 3\,NO_2\,(g) + 3\,H_2O\,(l) \quad (1)$$

$$Au^{3+}\,(aq) + 4\,Cl^-\,(aq) \longrightarrow AuCl_4^-\,(aq) \quad (2)$$

ตัวรีดิวซ์จากผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร

คณะนักวิจัยได้ศึกษาผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีคุณสมบัติที่เป็นตัวรีดิวซ์ได้และมีความเป็นไปได้ที่จะนำมาใช้ในกระบวนการสังเคราะห์โดยมีตัวอย่างงานวิจัยหลายงานที่ได้ทำการศึกษามาก่อนหน้านี้เช่น

ปี ค.ศ. 2006 P. Raveendran และคณะได้สังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโนเมตรความเข้มข้นประมาณ 10,000 ppm โดยใช้ $AgNO_3$ในน้ำเป็นสารตั้งต้น มีน้ำตาล D-glucose ทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์และใช้แป้งเป็นสารช่วยเสถียรโดยให้ความร้อนด้วยการทำปฏิกิริยาใน เป็นเวลา 60 วินาที รววมทั้งนำวิธีการเดียวกันนี้ไปทำการสังเคราะห์อนุภาคทองและอัลลอยด์ของทองกับเงิน ในระดับนาโนเมตรด้วย ซึ่งงานวิจัยนี้สามารถสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโนเมตร ที่สังเคราะห์ได้เป็นอนุภาคทรงกลมที่มีขนาดเฉลี่ย 6–10 นาโนเมตร แต่ว่างานวิจัยนี้ยังมีข้อจำกัดคือการใช้อุณหภูมิสูงในเตาไมโครเวฟทำให้สังเคราะห์ได้ในปริมาณที่น้อยประมาณ 2 มิลลิตร

ปี ค.ศ. 2006 N. Vigneshwaran และคณะ ได้สังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโนเมตรจากการสลายตัวของแป้งในสภาวะอุณหภูมิและความดันสูงคือที่ 121 องศาเซลเซียสและ 15 psi ทำให้สายโซ่ของแป้งแตกออกที่ตำแหน่ง α-(1→ 4) กลายไปเป็นน้ำตาล D-glucose ที่มีสมบัติเป็นตัวรีดิวซ์และในแป้งส่วนที่เหลือก็จะกลายเป็นสารช่วยเสถียร โดยมีน้ำเป็นตัวทำละลาย และใช้ใช้ $AgNO_3$ สารตั้งต้น งานวิจัยนี้สามารถสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโนเมตรที่สังเคราะห์ได้เป็นอนุภาคทรงกลมที่มีขนาดเฉลี่ย 10–34 นาโนเมตร อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้ยังมีข้อจำกัดคือการใช้อุณหภูมิและความดันที่สูงในการเกิดปฏิกิริยา

ปี ค.ศ. 2009 M. Singh และคณะ ได้สังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโนเมตรในสภาวะเบส ได้ความเข้มข้นของอนุภาคเงินประมาณ 50,000 – 100,000 ppm โดยใช้ $AgNO_3$ สารตั้งต้น มีน้ำเป็นตัวทำละลาย มีน้ำตาล D-glucose ทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์และใช้แป้งเป็นสารช่วยเสถียร ซึ่งทำปฏิกิริยาโดยใช้ NaOH เปลี่ยนน้ำตาล D-glucose ให้มีหมู่ที่ทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์ งานวิจัยนี้สามารถสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโนเมตรที่สังเคราะห์ได้เป็นอนุภาคทรงกลมที่มีขนาดเฉลี่ย 11 - 25 นาโนเมตร อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้ยังมีข้อจำกัดคือการสังเคราะห์ได้ปริมาณที่น้อยคือครั้งละ 10 - 20 มิลลิตร โดยมีกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังสมการ

$$Ag^{+} + Starch \rightarrow Ag(Starch)^{+} \quad (1)$$

$$CH_2OH(CHOH)_4CHO + 2[Ag(starch)]^{+} + 2OH^{-} \rightarrow CH_2OH(CHOH)_4COOH + 2Ag(starch)\downarrow + H_2O \quad (2)$$

$$2Ag^{+} + 2OH^{-} \rightarrow Ag_2O + H_2O \quad (3)$$

$$Ag_2O + CH_2OH(CHOH)_4CHO + 2Starch \rightarrow CH_2OH(CHOH)_4COOH + 2Ag(starch)\downarrow \quad (4)$$

ปี ค.ศ. 2009 H. Bar และคณะ ได้สังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโนเมตรได้ความเข้มข้นของอนุภาคเงินประมาณ 270 ppm โดยใช้ $AgNO_3$ เป็นสารตั้งต้น มีน้ำเป็นตัวทำละลาย โดยใช้ยางจากต้นสบู่ดำ ซึ่งมีสาร

curcacycline A และ curcacycline B ซึ่งเป็นสารกลุ่ม cyclic peptide ทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์ร่วมทั้งเป็นสารช่วยเสถียรงานวิจัยนี้สามารถสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโนเมตรที่สังเคราะห์ได้เป็นอนุภาคทรงกลมที่มีขนาดเฉลี่ย 10–20 นาโนเมตร อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้ยังมีข้อจำกัดคือยังสังเคราะห์ได้ในความเข้มข้นต่ำและเป็นไปได้ยากที่จะต้องผลิตอนุภาคเงินด้วยวิธีนี้ในปริมาณมากเนื่องจากต้องใช้ต้นสบู่ดำจำนวนมากในการผลิตซึ่งในขณะนี้ยังไม่มีการปลูกอย่างแพร่หลาย

ปี ค.ศ. 2009 A.T. Le และคณะ ได้สังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโนเมตรได้ความเข้มข้นของอนุภาคเงินประมาณ 1,000 ppm โดยใช้ AgO_2 เป็นสารตั้งต้นโดยละลายในสารละลายแอมโมเนีย เพื่อทำให้อยู่ในรูป $[Ag(NH_3)_2]^+$ และใช้ glucose เป็นตัวรีดิวซ์ มี oleic acid เป็นสารช่วยเสถียร โดยให้แสงยูวีและใช้เวลา 8 ชั่วโมงในการทำปฏิกิริยา โดยงานวิจัยนี้ใช้แสงยูวีในการเปลี่ยนให้ glucose มีหมู่ฟังก์ชันก์ที่ทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์ได้โดยใช้หลักการเดียวกับ Tollens reaction ดังแสดงคือ

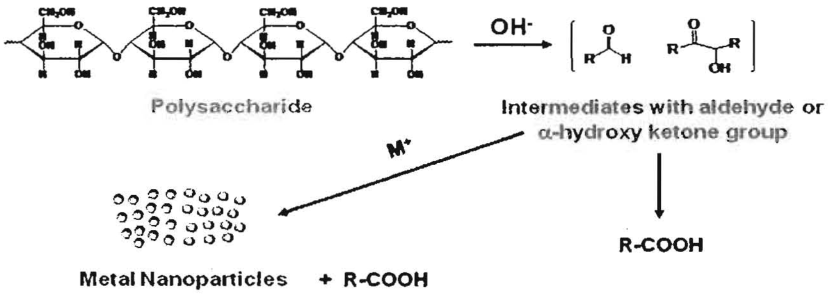
$$[Ag(NH_3)_2]^+_{(aq)} + RCHO_{(aq)} \rightarrow Ag_{(s)} + RCOOH_{(aq)}$$

งานวิจัยนี้สามารถสังเคราะห์ที่สังเคราะห์ได้เป็นอนุภาคทรงกลมที่มีขนาดเฉลี่ย 9–10 นาโนเมตร แต่งานวิจัยนี้มีข้อเสียอยู่คือต้องใช้เวลานานในการเกิดปฏิกริยาและไม่สามารถใช้ AgO_2 โดยตรงทำให้เพิ่มขั้นตอนในการสังเคราะห์

ซึ่งจากงานวิจัยข้างต้นทางทีมผู้วิจัยสนใจเลือกสารใน กลุ่มคาร์โบไฮเดรต ได้แก่ พอลิแซคคาร์ไรด์ ไดแซคคาร์ไรด์ มอนอแซคคาร์ไรด์ มีสมบัติเป็นตัวรีดิวซ์อ่อน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง แป้งชนิดต่างๆซึ่งสามารถหาซื้อได้ง่าย มีอยู่จำนวนมากในประเทศไทย และมีราคาถูก จึงเลือกนำมาใช้งาน และหาวิธีการร่วมทั้งปฏิกิริยาที่ความซับซ้อนยุ่งยากน้อยที่สุด และให้ได้ปริมาณอนุภาคระดับนาโนเมตรจำนวนมาก

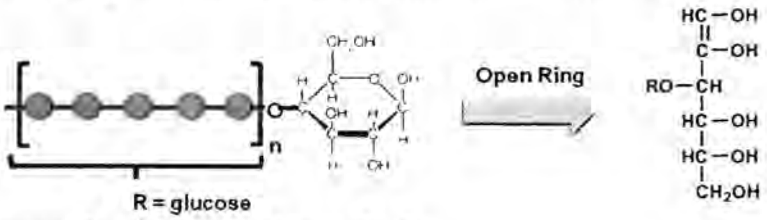
การเพิ่มประสิทธิภาพของตัวรีดิวซ์

เนื่องจากสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรตมีความสามารถในการรีดิวซ์ที่ต่ำจึงต้องทำการปรับปรุงโครงสร้างเพื่อให้มีประสิทธิภาพที่ดีขึ้น วิธีการที่ง่ายที่สุดคือ การย่อยให้มีขนาดเล็กลงและเกิดหมู่ฟังก์ชันใหม่ที่เป็นตัวรีดิวซ์ที่แรงกว่าเดิม และวิธีการที่ถูกเลือกใช้คือ การสลายตัวในสภาวะด่าง (Alkaline degradation)

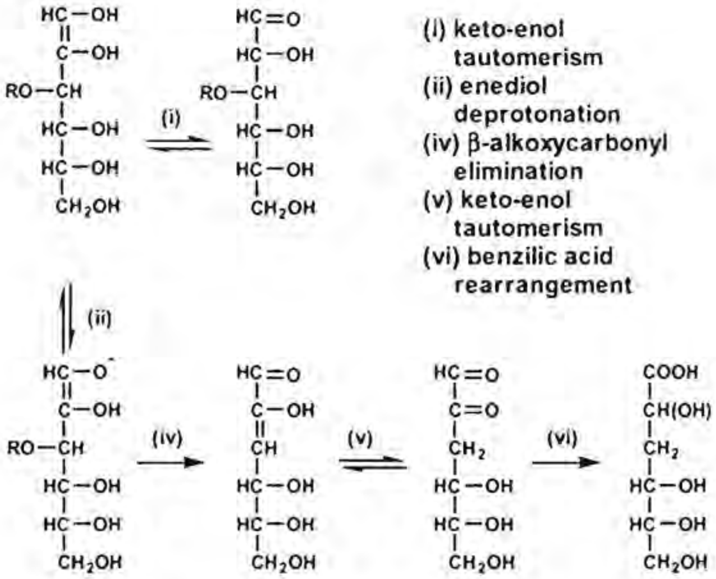


รูปที่ 2 การเกิดอนุภาคระดับนาโนของโลหะจากการสลายตัวของโพลิเซคคาไรด์ด้วยเบส

ในกรณีปกติ การสลายตัวในสภาวะด่างของสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรตจะให้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ โดย OH⁻ จะเข้าไปทำปฏิกิริยาที่ปลายสายโซ่ของโพลิเซคคาร์ไรด์ดังแสดง

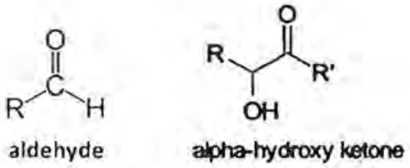


รูปที่ 3 การเปิดวงของกลูโคสที่ปลายโซโพลิเซคคาไรด์



รูปที่ 4 การเกิดปฏิกิริยาการสลายตัวของกลูโคสจากโพลิเซคคาร์ไรด์ด้วยด่าง

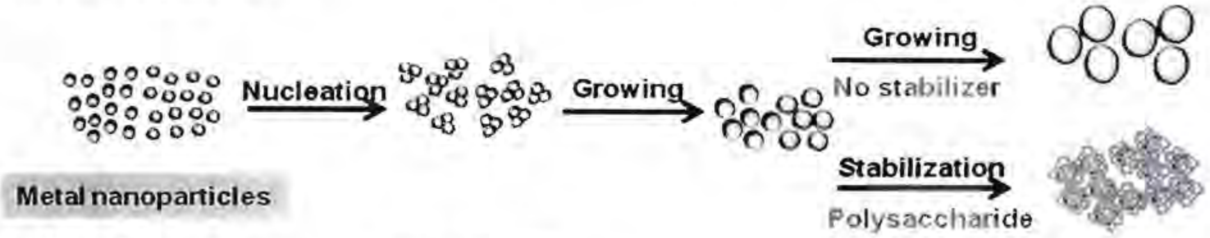
ในระหว่างการสลายตัวของโพลิเซคคาร์ไรด์ด้วยด่างซึ่งผลิตภัณฑ์สุดท้ายกลายไปเป็นกรดอินทรีย์นั้น พบว่าสารมัธยันตร์ (intermediate) ที่เกิดขึ้นในระหว่างการเปลี่ยนไปเป็นกรดอินทรีย์ ซึ่งเป็นสารอินทรีย์จำพวก อัลดีไฮด์ (aldehyde) และ อัลฟาไฮดรอกซี่คีโตน (alpha-hydroxy ketone) ซึ่งเป็นสารอินทรีย์ที่มีความสามารถที่จะเป็นตัวรีดิวซ์ สามารถให้อิเล็กตรอนได้ และสุดท้ายหลังจากเกิดการให้อิเล็กตรอนกับไอออนของโลหะแล้วก็จะได้อนุภาคระดับนาโนเมตรของโลหะ ส่วน อัลดีไฮด์ และ อัลฟาไฮดรอกซี่คีโตน ก็จะเปลี่ยนกลายไปเป็นกรดอินทรีย์ต่อไป



รูปที่ 5 หมู่ฟังก์ชั่นที่สามารถเป็นตัวรีดิวซ์ได้ คือ อัลดีไฮด์ (aldehyde) และ อัลฟาไฮดรอกซี่คีโตน (alpha-hydroxy ketone)

สารช่วยเสถียร

สารช่วยเสถียร (Stabilizer) มีบทบาทสำคัญในการสังเคราะห์อนุภาคระดับนาโนเมตร เนื่องจากอนุภาคในระดับนาโนเมตร นอกจากมีขนาดที่เล็กมากๆอยู่ในระดับนาโนเมตรแล้ว พื้นที่ผิวก็มีเพิ่มขึ้นมหาศาล ส่งผลให้มีพลังงานพื้นผิวที่สูง ด้วยดังนั้นโดยธรรมชาติแล้วการที่อนุภาคจะอยู่อย่างเสถียรในระบบหรือสารละลายได้จำเป็นจะต้องมี พลังงานพื้นผิว ที่เหมาะสมกับระบบนั้นๆหรือกล่าวคือจะต้องมีพลังงานต่ำสุดที่สุด ดังนั้นจึงทำให้อนุภาคเกิดการรวมตัวกันให้มีขนาดที่ใหญ่ขึ้น ส่งผลทำให้พื้นที่ผิวลงทำให้พลังงานพื้นผิวลดลง แต่อนุภาคก็จะมีขนาดที่ใหญ่ขึ้นจนไม่สามารถรักษาสภาพแขวนลอยไว้ได้ และตกตะกอนออกมา ดั้งนั้นสารเติมสารช่วยเสถียรลงไปก็จะไปป้องกันบริเวณพื้นผิวของอนุภาค ก็จะทำให้อนุภาคแม้อยู่ใกล้กันไม่สามารถเข้ามารวมตัวได้ ทำตัวอนุภาคเองคงสภาพในการเป็นอนุภาคระดับนาโนเมตร และยังคงความเป็นคอลลอยด์อยู่ในสารละลายได้ ยิ่งการสังเคราะห์เพื่อให้ได้ที่ปริมาณและความเข้มที่สูงแล้วสารช่วยเสถียรที่เหมาะสมก็มีหน้าที่สำคัญยิ่งในการสังเคราะห์ เนื่องจากในกรณีทีความเข้มข้นสูงจะเกิดการตกตะกอนได้ง่ายกว่าการสังเคราะห์ความเข้มข้นต่ำ

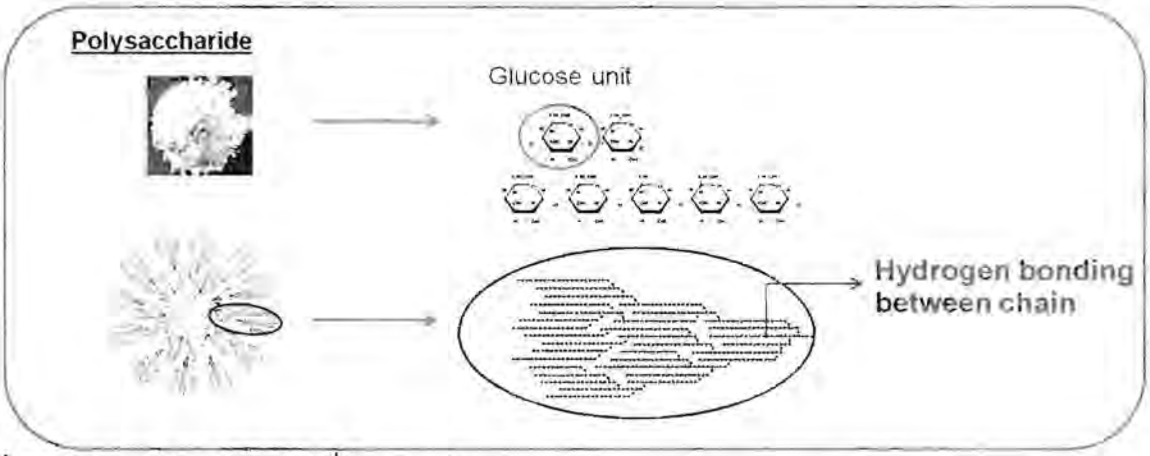


รูปที่ 6 กลไกลการโตของอนุภาคระดับนาโนเมตร

หลังจากที่ไอออนของโลหะได้รับอิเล็กตรอนจนเกิดเป็นอนุภาคโลหะระดับนาโนเมตรแล้ว อนุภาคโลหะระดับนาโนเมตรจะจะเกิดการรวมตัวกันในขั้นต้น (nucleation) และรวมต่อ ไปจนมีขนาดใหญ่ขึ้น (growing) ทั้งนี้กระบวนการดังกล่าวที่เกิดขึ้นก็เป็นผลเนื่องจากการที่อนุภาคจะลดระดับพลังงานพื้นผิวลงตามที่กล่าวไว้ข้างต้นแล้ว หากปล่อยให้เกิดการรวมกันเรื่อยๆอนุภาคก็จะมีขนาดใหญ่ขึ้นจนไม่สามารถจะกลายเป็นคอลลอยด์และตกตะกอนในที่สุด ดังนั้นการเติมสารช่วยเสถียรลงไปก็จะไปหยุดขั้นตอนการโตอย่างต่อเนื่องของอนุภาค ทำให้สามารถคงสมบัติของขนาดและความเป็นคอลลอยด์ของอนุภาคไว้ได้

จากการศึกษาของทีมผู้วัยพบว่าหลายๆงานวิจัยที่ผ่านมามีการใช้สารจำพวกสารลดแรงตึงผิว (surfactant) หรือ โพลิเมอร์โซ่ยาวชนิดต่างๆที่สามารถละลายในตัวทำละลายที่ใช้ในการสังเคราะห์ได้ดีเพื่อทำหน้าที่เป็นสารช่วยเสถียร แต่เนื่องจากสารเหล่านี้จะต้องมีการใช้ในตัวทำละลายอินทรีย์และบางตัวยังมีความเป็นพิษอยู่ รวมทั้งบางชนิดมีราคาแพงและต้องมีการสั่งนำเข้ามา ดังนั้นทางทีมผู้วิจัยจึงสนใจนำสารที่ได้จากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ โดยเฉพาะกลุ่มโพลิเซคคาร์ไรด์ ซึ่งผู้วิจัยได้ทำการศึกษาเบื้องต้นแล้วพบว่าการใช้ แป้งโดยเฉพาะ soluble strach เป็นสารช่วยเสถียรให้ผลเป็นที่น่าพึงพอใจ โดยสามารถเก็บรักษาอนุภาคระดับนา

โนเมตร ที่เป็นคอลลอยด์ไว้ได้นาน ไม่มีการเปลี่ยนแปลงสมบัติและตกตะกอน เนื่องจากตัวแป้งเองมีโครงสร้างที่มีลักษณ์เป็นโซ่กิ่งและมีหมู่ฟังก์ชั่นที่สามารถทำให้เกิดการเกาะติดระหว่างตัวอนุภาคโลหะระดับนาโนเมตรและแป้งได้อย่างดี ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้แป้ง เป็นสารช่วยเสถียร



รูปที่ 7 ลักษณะโครงสร้างโดยทั่วไปของแป้ง

และจากการศึกษาในกรณีของตัวรีดิวซ์ก็จะพบการใช้แป้งซึ่งเป็นสารกลุ่มโพลิเซคคาร์ไรด์และเกิดปฏิกิริยาการสลายตัวในเบสให้เป็นตัวรีดิวซ์ได้เช่นกัน จึงกล่าวได้ว่า แป้งนั้นสามารถทำหน้าที่ได้ทั้งสองหน้าที่ คือแป้งส่วนหนึ่งเกิดปฏิกิริยากับเบสเกิดเป็นตัวรีดิวซ์ และ อีกส่วนที่เหลือก็จะทำหน้าที่เป็สารช่วยเสถียรดังนั้น ในงานวิจัยทั้งหมดหลังจากนี้ก็จะมีการเลือกใช้แป้งซึ่งทำหน้าที่ทั้งเป็นตัวรีดิวซ์และสารช่วยเสถียรในเวลาเดียวกัน

น้ำนมและการวิเคราะห์น้ำนม

น้ำนมคือสารที่สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมหลั่งออกเพื่อใช้เลี้ยงลูกอ่อน โดยมนุษย์นั้นรู้จักการนำน้ำนมของสัตว์อื่นมาใช้ประโยชน์ตั้งแต่โบราณกาลประโยชน์ของน้ำนมนั้นมีมากมายตั้งแต่การนำมาใช้ดื่มโดยตรงและใช้ทำเป็นอาหาร จนถึงการสกัดโปรตีนบางชนิดเพื่อมาใช้ในงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์

มนุษย์นั้นนำน้ำนมจากสัตว์หลายชนิดมาใช้ประโยชน์ เช่น โค, กระบือ, แพะ, แกะ, อูฐ, ฯลฯ แต่เนื่องด้วยเหตุผลด้านรสชาติและปริมาณน้ำนมที่ให้ น้ำนมโคจึงถูกผลิตเป็นปริมาณมากที่สุด ปัจจุบัน นับเฉพาะในประเทศไทยมีโคนมถึง 483,899 ตัว จากเกษตรกร 17,837 ครัวเรือน (สำรวจปี ค.ศ. 2009 โดยศูนย์สารสนเทศกรมปศุสัตว์) ผลิตน้ำนมได้มากกว่า 2000 ตัน/วัน

ในด้านโภชนาการ น้ำนมโคถือว่าเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีราคาถูกแต่ให้สารอาหารที่สำคัญเป็นปริมาณมาก โปรตีนในน้ำนมมีกรดอะมิโนที่จำเป็นครบทั้ง 10 ชนิดได้แก่อาร์จินีน ฮิสติดีน ไอโซลิวซีน ไลซีน ลิวซีน เมไทโอนีน เฟนิลอะลานีน ทรีโอนีน ทริปโตเฟน และวาลีน และน้ำนมยังมีแคลเซียมอยู่เป็นปริมาณมาก น้ำนมโคจึงเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความสำคัญ โดยเฉพาะกับเด็กในวัยเจริญเติบโต

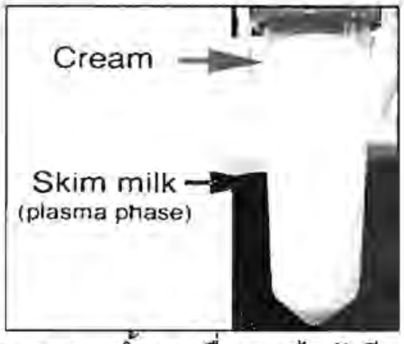
ตามข้อกำหนดของกระทรวงสาธารณสุข (ดูประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 265 ในภาคผนวก ข.) นมโคสามารถแบ่งแยกประเภทได้ 5 ประเภท ดังนี้

1) น้ำนมดิบที่ผ่านกรรมวิธีฆ่าเชื้อ หมายถึง น้ำนมที่ผ่านกรรมวิธีพาสเจอร์ไรส์ สเตอริไลส์ หรือยูเอชที อย่างใดอย่างหนึ่ง และไม่ผ่านกระบวนการแยกออกหรือเติมเข้าไปซึ่งวัตถุอื่นใดอีก เว้นแต่การปรับปริมาณมันเนยโดยการแยกหรือเติมมันเนย โดยน้ำนมดิบที่ผ่านกรรมวิธีฆ่าเชื้อนั้นยังสามารถแบ่งได้เป็นสามประเภท คือน้ำนมดิบชนิดเต็มมันเนยซึ่งหมายถึงน้ำนมดิบที่ไม่ได้แยกมันเนยออก น้ำนมดิบชนิดพร่องมันเนยซึ่งแยกมันเนยออกบางส่วน และน้ำนมดิบชนิดขาดมันเนยซึ่งแยกมันเนยออกเกือบทั้งหมด
2) นมผง หมายถึง น้ำนมดิบที่ผ่านกรรมวิธีฆ่าเชื้อที่ระเหยน้ำออกด้วยกรรมวิธีต่าง ๆ จนเป็นผง และอาจมีการเติมวัตถุอื่น ๆ ที่เป็นองค์ประกอบของนมอีกด้วยก็ได้
3) นมข้น หมายถึง น้ำนมดิบที่ระเหยเอาน้ำบางส่วนออกและอาจเติมน้ำตาลหรือวัตถุอื่นใดที่เป็นองค์ประกอบของนมอีกด้วยก็ได้
4) นมคืนรูป หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำเอาองค์ประกอบของน้ำนมดิบมา ผสมกันให้มีลักษณะเช่นเดียวกับนมโค และอาจเติมน้ำนมดิบหรือวัตถุอื่นใดที่เป็นองค์ประกอบของนมอีกด้วยก็ได้
5) นมแปลงไขมัน นมโคที่ใช้ไขมันอื่นเช่นไขมันจากพืช แทนมันเนยที่มีอยู่บางส่วนหรือทั้งหมด

เพื่อให้รวบรัดและตรงกับวัตถุประสงค์ของงานวิจัย ในงานวิจัยนี้คำว่า “น้ำนม” จะหมายถึงน้ำนมโคดิบที่ผ่านการฆ่าเชื้อชนิดเต็มมันเนย โดยไม่มีการแต่งรส กลิ่น สี เท่านั้น

องค์ประกอบของน้ำนมโค

น้ำนมนั้นประกอบด้วยสามเฟสคือ สารละลายในน้ำ ไมเซลล์ของเคซีน และคอลลอยด์ของไขมัน การแยกคอลลอยด์ของไขมันออกจากเฟสอื่นสามารถทำได้ง่ายด้วยการเซนทริฟิวจ์ที่ความเร่ง 5000 - 10,000 g ซึ่งเป็นขั้นตอนสำคัญในการผลิตของผลิตภัณฑ์จากนมหลายชนิดเช่นนมพร่องมันเนยและวิปปิ้งครีม โดยส่วนที่แยกออกมานี้จะเรียกว่าครีมหรือครีมนม ซึ่งจะประกอบด้วยน้ำและไขมันเป็นองค์ประกอบหลัก โดยมีโปรตีนปนมาด้วยเล็กน้อย สำหรับการแยกไมเซลล์ของเคซีนออกจากเฟสอื่นนั้นยากกว่าการแยกไขมันมาก เพราะไมเซลล์ของเคซีนรวมตัวกันยากกว่าและละลายในน้ำได้ดีกว่าไขมัน จึงต้องใช้การเซนทริฟิวจ์ที่ 16,000 g ขึ้นไป จึงทำให้วิธีตกตะกอนเคซีนด้วยการปรับ pH ไปที่ 4.6 เป็นวิธีที่นิยมกันมากกว่า

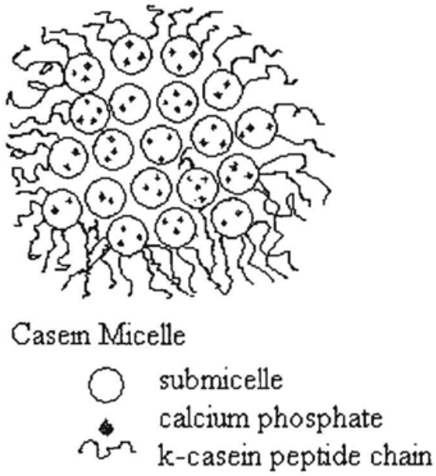


รูปที่ 8 ผลของการปั่นแยกเฟสไขมันออกจากน้ำนม เนื่องจากไขมันมีความหนาแน่นน้อยกว่าน้ำจึงลอยอยู่ด้านบนของสารละลาย ส่วนที่เหลืออยู่หลังแยกไขมันออกไปแล้วจะเรียกว่านมพร่องมันเนย ซึ่งจะประกอบด้วยสารละลายและไมเซลล์ของเคซีน

(รูปจาก ttp://classes.ansci.illinois.edu/ansc438/Milkcompsynth/milkcomp_protein.html)

เฟสที่เป็นสารละลายในน้ำนั้นจะมีโปรตีนที่ละลายน้ำได้, น้ำตาลแลคโตส และเกลือของโลหะต่าง ๆ ละลายอยู่ โดยโปรตีนที่ละลายน้ำได้เหล่านี้มักจะมีพันธะไดซัลไฟด์เป็นจำนวนมาก ทำให้ขดตัวเป็นก้อนกลมและละลายอยู่ในน้ำได้ ซึ่งโปรตีนเหล่านี้หลายชนิดมีหน้าที่การทำงานในร่างกายของแม่โค เช่น α-lactalbumin มีส่วนร่วมในการสังเคราะห์แลกโตส ส่วน immunoglobulin นั้นมีบทบาทในระบบภูมิคุ้มกัน ในขณะที่ lactoferrin และ transferrin มีหน้าที่ในกระบวนการสะสมธาตุเหล็กในร่างกาย อย่างไรก็ตาม เมื่ออยู่ในน้ำนมโปรตีนเหล่านี้ก็ไม่ได้มีฟังก์ชันการทำงานเป็นพิเศษอีก แต่มีหน้าที่เป็นสารอาหารให้ลูกโคต่อไปเท่านั้น ยกเว้นเพียงแต่เอนไซม์บางชนิดที่ยังคงทำงานต่อไปเมื่ออยู่ในน้ำนม โปรตีนในนมที่ละลายอยู่ในน้ำนั้นจะเรียกโดยรวมว่า whey protein ซึ่งคิดเป็นประมาณ 17% ของปริมาณโปรตีนในนมทั้งหมด

สำหรับเฟสที่เป็นไมเซลล์ของเคซีนนั้น จะมีโครงสร้างภายในสามชั้น คือผลึกของแคลเซียมฟอสเฟตหลาย ๆ ผลึกจะอยู่ในไมเซลล์ย่อยที่มี α-s1-casein, α-s2-casein และ β-casein อยู่ จากนั้นไมเซลล์ย่อยหลาย ๆ อันจะรวมตัวกันเป็นไมเซลล์ของเคซีนโดยมี κ-casein ล้อมรอบอีกทีหนึ่ง κ-casein นั้นจะหันปลายที่ละลายน้ำออกด้านนอกของไมเซลล์ทำให้ไมเซลล์สามารถกระจายตัวในน้ำได้ เคซีนทุกชนิดไม่ได้มีฟังก์ชันการทำงานเป็นพิเศษ แต่เคซีนเป็นโปรตีนที่ย่อยได้ง่าย และมีกรดอะมิโนที่จำเป็นครบทุกชนิด ทำให้เคซีนมีหน้าที่สำคัญในการกลายเป็นสารอาหารให้ลูกโคใช้ในการเจริญเติบโต



รูปที่ 9 แสดงส่วนประกอบของไมเซลล์ของเคซีน โดยจะมี **K**-casein ห้อมล้อมอยู่ภายนอกและมีไมเซลล์ย่อยหลาย ๆ อันอยู่ภายใน โดยในไมเซลล์ย่อยก็จะมีผลึกของแคลเซียมฟอสเฟตหลายผลึกอยู่ภายในไมเซลล์ของเคซีนนี้จะมีขนาดประมาณ 130 - 160 nm

(รูปจาก http://www.milkfacts.info/Milkcomposition/protein.htm)

จากฐานข้อมูล USDA Nutrient Database (USDA ย่อมาจาก United State Department of Agriculture ซึ่งคือกระทรวงเกษตรของประเทศสหรัฐอเมริกา) องค์ประกอบหลักของน้ำนมโคคือ น้ำ, น้ำตาลแลกโตส, ไขมันและโปรตีน ดังที่แสดงไว้ในตารางที่ 1 ซึ่งปริมาณกรดอะมิโนชนิดต่าง ๆ ที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีนในนมได้แสดงไว้ในตารางที่ 2 นอกจากนี้ยังมีวิตามินและแร่ธาตุอยู่ในน้ำนมเป็นปริมาณเล็กน้อย ดังที่แสดงไว้ในตารางที่ 3 และ 4

ตารางที่ 1 แสดงองค์ประกอบหลักของน้ำนม ในน้ำนม 100 กรัม สิ่งที่พึงระวังคือ ค่าที่อยู่ในตารางนี้เป็นค่าเฉลี่ยเท่านั้น เพราะนมโคแต่ละพันธุ์ก็จะมีปริมาณองค์ประกอบแต่ละชนิดต่างกันไปเล็กน้อย และอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงก็ส่งผลถึงปริมาณองค์ประกอบในน้ำนมด้วยเช่นกัน

องค์ประกอบ	มวล (กรัม)
น้ำ	88.32
น้ำตาลแลกโตส	5.26
ไขมัน	3.25
โปรตีน	3.22

ตารางที่ 2 แสดงปริมาณวิตามินชนิดต่าง ๆ ในน้ำนม 100 g บ่งชี้ว่าในนมมีปริมาณวิตามินน้อยมากเมื่อเทียบกับปริมาณองค์ประกอบหลักเช่นโปรตีนหรือไขมัน แต่สัตว์เช่นคนหรือโคก็ต้องการวิตามินเป็นปริมาณไม่มากอยู่แล้ว ข้อสังเกตอย่างหนึ่งก็คือ แม้นมโคจะมีวิตามินที่สำคัญหลายชนิด แต่

นมโคไม่มีวิตามิน C อยู่เลย*ข้อมูลจาก Thai Recommend Daily Intakes (Thai RDI) โดยคณะอนุกรรมการพิจารณาการแสดงคุณค่าทางโภชนาการบนฉลากของอาหาร 2538

องค์ประกอบ	มวล (mg)	ปริมาณที่แนะนำต่อวัน* (mg)
วิตามิน A	0.028	0.8
วิตามิน B1 (Thiamin)	0.044	1.5
วิตามิน B2 (Riboflavin)	0.183	1.7
วิตามิน B3 (Niacin)	0.107	20
วิตามิน B5 (Pantothenic Acid)	0.362	6
วิตามิน B6 (Pyridoxine)	0.036	2
วิตามิน B12 (Cobalamin)	0.00044	0.002
วิตามิน E	0.06	10
โฟเลต	0.005	0.2
วิตามิน K	0.0002	0.08

ตารางที่ 3 แสดงปริมาณแร่ธาตุในน้ำนม 100 g จะเห็นว่าในน้ำนมมีแคลเซียมเป็นปริมาณมาก โดยเกือบทั้งหมดจะอยู่ในรูปของแคลเซียมฟอสเฟต ทำให้ในน้ำนมมีปริมาณฟอสฟอรัสสูงตามไปด้วย

องค์ประกอบ	มวล (mg)
Copper	0.011
Iron	0.03
Magnesium	10
Manganese	0.003
Phosphorus	91
Potassium	143
Selenium	0.0037
Sodium	40
Zinc	0.40
Calcium	113

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) ของประเทศไทยก็ได้วิเคราะห์และกำหนดมาตรฐานของน้ำนมไว้เช่นกันดังรายละเอียดในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงองค์ประกอบในน้ำนมตามมาตรฐานของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาของประเทศไทย จะเห็นว่ามาตรฐานนั้นกำหนดปริมาณองค์ประกอบแต่ละชนิดไว้อย่างกว้าง ๆ เนื่องจากประเทศไทยมีน้ำนมจากโคหลายพันธุ์ และยังมีการนำเข้านมผงจากต่างประเทศมาละลายน้ำด้วย

องค์ประกอบ	มวล (g)
น้ำ	87.0 - 89.5
น้ำตาลแลกโตส	3.6 - 5.5
ไขมัน	2.5 - 6.0
โปรตีน	2.9 - 5.5

จากข้อมูลองค์ประกอบดังที่ได้กล่าวมา จะเห็นว่าถ้าไม่คิดถึงน้ำแล้ว องค์ประกอบส่วนใหญ่ของนมล้วนแต่เป็นสารอาหารทั้งสิ้น อย่างไรก็ตาม ในน้ำนมยังมีองค์ประกอบอื่น ๆ ที่ไม่ใช่สารอาหารปนอยู่ด้วย เช่น ยูเรีย, แบคทีเรียบางชนิดและเซลล์ร่างกายของแม่โคปนอยู่ด้วยเช่นกัน องค์ประกอบเหล่านี้โดยทั่วไปไม่เป็นอันตราย แต่จะต้องควบคุมไม่ให้เกินมาตรฐานที่กำหนดไว้เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค ซึ่งกระทรวงสาธารณสุขก็ได้ตั้งข้อกำหนดสำหรับองค์ประกอบเหล่านี้ไว้แล้ว

ปัญหาเกี่ยวกับน้ำนมโคในประเทศไทย

ในปี 2535 รัฐบาลได้เล็งเห็นว่ายังมีเด็กไทยจำนวนมาก โดยเฉพาะในชนบท ที่ไม่ได้รับสารอาหารอย่างพอเพียง จึงจัดตั้ง “โครงการนมโรงเรียน” ขึ้น โดยมีจุดประสงค์ที่จะยกระดับสุขภาพของประชากรและการสร้างรายได้ให้แก่เกษตรกรในประเทศ ด้วยการจัดซื้อและแจกจ่ายน้ำนมให้เด็กนักเรียนชั้นอนุบาลถึงประถมศึกษาดื่มทุกๆ วัน ซึ่งพบว่า มีการทุจริตเกิดขึ้นเป็นอย่างมากตั้งแต่ปีแรกของโครงการจนถึงปัจจุบัน ซึ่งรูปแบบของการทุจริตสามารถสรุปได้อย่างคร่าวๆ ดังนี้

1) การเก็บค่าหัวคิว หมายถึงการที่ต้องจ่ายเงินกินเปล่าให้แก่ผู้มีอำนาจสั่งการและประสานงานในแต่ละขั้นตอน ซึ่งจากการสำรวจพบว่ามีเงินเพียงครึ่งเดียวที่จัดสรรมาให้โครงการที่ลงไปถึงเกษตรกรจริงๆ ส่วนที่เหลือจะอยู่กับผู้จัดจำหน่ายและนักการเมืองทั้งหมด
2) การฮั้วและล็อคประมูล หมายถึงการนัดกันไว้ล่วงหน้าของผู้เข้าร่วมประมูลสิทธิในการจัดจำหน่าย และการกำหนดเงื่อนไขจากพนักงานของรัฐที่เอื้อให้กับผู้เข้าร่วมประมูลรายใดรายหนึ่งเป็นพิเศษ การฮั้วประมูลทำให้รัฐบาลต้องจ่ายเงินค่านมโรงเรียนด้วยราคาที่แพงกว่าปกติ ส่วนการล็อคประมูลทำให้สิทธิ์จัดซื้อและจัดจำหน่ายส่วนใหญ่ตกแก่ผู้ผลิตที่รู้จักกับนักการเมือง
3) การที่ผู้ผลิตซื้อนมผงจากต่างประเทศมาละลายน้ำ เนื่องจากนมผงจากต่างประเทศมีราคา 6 - 7 บาทต่อกิโลกรัม ในขณะที่น้ำนมในประเทศมีราคาอยู่ที่ 7 - 11 บาทต่อกิโลกรัม ทำให้การซื้อนมผงจากต่างประเทศ

ให้ต้นทุนที่ถูกกว่าการซื้อนมสดในประเทศ ส่งผลทำให้น้ำนมในประเทศเกิดล้นตลาดและสร้างความเดือดร้อนให้แก่เกษตรกรเป็นอันมาก

4) การที่ผู้ผลิตลดต้นทุนการผลิตอย่างไม่ถูกต้องด้วยการลดการควบคุมและตรวจสอบ ทำให้เกิดปัญหานมไม่ได้คุณภาพ เช่นการไม่เก็บนมไว้ในอุณหภูมิต่ำกว่า 8 °C หลังการพาสเจอร์ไรส์[1] ทำให้เกิดปัญหานมบูด การไม่ตรวจสอบเครื่องมือและกระบวนการทำให้เกิดปัญหาการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย
5) การปลอมปนนม คือการเติมสารอื่นๆ ที่มีราคาถูกว่าผสมเข้าไปในน้ำนมเพื่อลดต้นทุน โดยทั่วไปก็คือการผสมน้ำเข้าไปในนม จากนั้นอาจจะผสมสารบางชนิดเข้าไปเพื่อทำให้เหมือนกับว่านมไม่ถูกเจือจาง เช่นการเติมแป้งหรือกาวเพื่อให้น้ำนมที่ถูกเจือจางดูข้นขึ้น การเติมเมลามีนเพื่อหลอกปริมาณโปรตีน หรือการเติมสารอื่นๆ เข้าไปเพื่อเพิ่มความขุ่น

ในมุมมองของผู้บริโภค การปลอมปนน้ำนมถือว่าเป็นปัญหาที่อันตรายยิ่งกว่าปัญหาอื่นๆ มาก เนื่องจากการปลอมปนน้ำนมนั้นสามารถทำให้เด็กนักเรียนไม่ได้รับสารอาหารตามที่ควรจะได้รับ และยังมีโอกาสที่จะได้รับสารอื่น ๆ ที่อาจเป็นอันตรายต่อร่างกายได้

การตรวจสอบปริมาณโปรตีนในน้ำนม

การตรวจสอบปริมาณโปรตีนในน้ำนมนั้นสามารถใช้วิธีการเดียวกันกับการตรวจสอบปริมาณโปรตีนในอาหารชนิดอื่น ๆ ได้ เพราะโดยทั่วไปแล้ว การปลอมปนน้ำนมที่ทำให้ผู้ผลิตได้กำไรมากขึ้นเช่นการเจือจางนมนั้นจะทำให้ปริมาณโปรตีนในนมน้อยลง ซึ่งถ้าหากมีการปลอมปนน้ำนมก็จะทำให้ทราบได้ทันที อย่างไรก็ตามวิธีการที่มีอยู่นั้น ยังไม่มีวิธีการใดเหมาะสมเพียงพอที่จะทำให้ผู้บริโภคสามารถตรวจสอบปริมาณโปรตีนในน้ำนมอย่างง่าย ๆ ได้ด้วยตัวเอง

Kjeldalh method

วิธีของเจลดาลห์นั้นเป็นวิธีหาปริมาณโปรตีนที่มีความเที่ยงตรงและความแม่นยำสูง และได้รับการศึกษามาเป็นอย่างดี จึงเป็นวิธีที่ถูกใช้ในห้องปฏิบัติการที่รับทดสอบอาหารทั่วโลกและได้รับการยอมรับว่าเป็นวิธีที่ได้มาตรฐานมากที่สุดวิธีหนึ่งในปัจจุบัน การวิเคราะห์ปริมาณโดยวิธีของเจลดาลห์นั้นใช้หลักการในการทำให้ไนโตรเจนในสารอินทรีย์ทั้งหมดอยู่ในรูปแอมโมเนียมซัลเฟต[43] จากนั้นจึงหาปริมาณแอมโมเนียมไอออนด้วยการไทเทรต เมื่อได้ปริมาณไนโตรเจนแล้วจึงคำนวณกลับเป็นปริมาณโปรตีน

ตั้งแต่เจลดาลห์ได้คิดค้นวิธีการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในปี 1883[44] วิธีของเจลดาลห์ก็ได้รับการพัฒนามาอย่างต่อเนื่อง[43] ในปัจจุบันการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนของเจลดาลห์สามารถทำได้โดย ย่อยตัวอย่างนมปริมาณ 5 กรัมในกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 30 mL โดยมี $CuSO_4{\cdot}5H_2O$ 0.09 g, TiO_2 0.09 g, กรดสเตียริก 0.01 g และ K_2SO_4 2.79 g เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา และให้ความร้อนจนเดือดเป็นเวลาประมาณหนึ่งชั่วโมง ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นดังนี้

$$Protein + H_2SO_4 \xrightarrow{[o]} (NH_4)_2SO_4 + CO_2 + SO_2 + H_2O$$

จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 50.00 mL ด้วยน้ำกลั่นเมื่อกระบวนการย่อยสิ้นสุด แล้วแบ่งมา 25.00 mL เติมด้วย NaOH 30% (w/w) ปริมาณเล็กน้อยเพื่อเปลี่ยนเกลือแอมโมเนียมให้กลับเป็นแอมโมเนียดังปฏิกิริยา

$$(NH_4)_2SO_4 + NaOH \longrightarrow NH_3 + NaSO_4$$

แล้วจึงนำไปกลั่นเพื่อแยกเอาแอมโมเนียออกมาจากสารละลายที่เหลือ โดยใช้กรดบอริค 4% (w/w) เป็นตัวจับแอมโมเนีย สุดท้ายจึงทำการไทเทรตเพื่อหาปริมาณแอมโมเนียด้วยกรดไฮโดรคลอริค และนำปริมาณแอมโมเนียที่ได้มาคำนวณหาปริมาณอะตอมไนโตรเจนในสารตัวอย่าง โดยปริมาณไนโตรเจนนี้สามารถนำมาคำนวณเป็นปริมาณโปรตีนได้ด้วยการใช้ Kjeldahl factor ซึ่งคืออัตราส่วนโดยมวลของโปรตีนต่อมวลไนโตรเจน ซึ่งในอาหารชนิดต่าง ๆ ก็จะมี Kjeldahl factor ต่างกันไป โดยน้ำนมโคจะมี Kjeldahl factor เท่ากับ 6.38 ซึ่งปริมาณโปรตีนที่ได้จากวิธีของเจลดาลห์นี้จะเรียกว่า CP (Crude Protein)

อย่างไรก็ตาม ปริมาณโปรตีนที่หาได้จากวิธีของเจลดาลห์นี้เป็นการหาปริมาณโปรตีนจากปริมาณไนโตรเจน ดังนั้นหากมีสารอินทรีย์อื่น ๆ ซึ่งมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบปนอยู่ในน้ำนมก็จะทำให้คำนวณปริมาณโปรตีนได้มากเกินจริง ดังที่เกิดวิกฤติการณ์ปลอมปนเมลามีนในน้ำนมเมื่อปี ค.ศ. 2008 ในทางเคมีวิเคราะห์เรียกไนโตรเจนจากองค์ประกอบอื่นว่า NPN (Non-Nitrogen Protein) ข้อพึงระวังอย่างหนึ่งก็คือ NPN นั้นไม่จำเป็นต้องเกิดจากการปลอมปน แต่องค์ประกอบบางชนิดที่มีอยู่ในน้ำนมเป็นปกติเช่นยูเรียก็ให้ NPN เช่นเดียวกัน สำหรับปริมาณโปรตีนที่แท้จริงในนมซึ่งเกิดจากการนำ CP มาลบด้วย NPN นั้นจะเรียกว่า TP (True Protein)

วิธีของเจลดาลห์นั้นมีความเที่ยงและความแม่นสูงทำให้มีความเหมาะสมในการนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการที่รับทดสอบอาหาร แต่วิธีนี้มีขั้นตอนซับซ้อนและสารเคมีที่เกี่ยวข้องเป็นจำนวนมากเกินกว่าจะนำมาทำเป็นชุดทดสอบสำหรับผู้บริโภค

รูปที่ 10 แสดงการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธีของเจลดาลห์ a) การย่อยด้วยกรดซัลฟิวริค b) การกลั่นแอมโมเนีย c) การไตเตรทหาปริมาณแอมโมเนียรูปโดยศูนย์วิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์ราชสีมา กองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์ (รูปจาก http://www.dld.go.th/ncna_nak/index/protein.html)

Dye binding method

หลักการของการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธีย้อมติดสีก็คือ เมื่อโปรตีนอยู่ใน pH ที่ต่ำกว่า Isoelectric point (pH ที่ทำให้โปรตีนชนิดนั้นๆ อยู่ในสภาวะที่ประจุรวมเป็นศูนย์) หมู่อะมิโน ($-NH_2$) บนโซ่ข้าง

ของกรดอะมิโนบางชนิดในโปรตีน เช่น ฮิสทิดีน, อาร์จินีน และไลซีน จะถูกโปรโตรเนตเป็นหมู่แอมโมเนียม ($-NH_3^+$) ซึ่งหมู่แอมโมเนียมนี้สามารถเกิดอันตรกิริยากับหมู่ซัลโฟเนตบนสีย้อม azo-sulfonic acid เช่น CI Acid Black 1 (amido black), CI Acid Orange 12 และ CI Acid Orange 10 (Orange G) เกิดเป็นสารเชิงซ้อนระหว่างโปรตีนกับสีย้อมได้เป็นสารที่ไม่ละลายน้ำซึ่งจะตกตะกอนแยกออกมาจากสารละลาย

ใน Review paper ของ B. Ribadeau-Dumas[43] ได้อธิบายวิธีการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธีย้อมติดสีไว้ว่า นำตัวอย่างปริมาตร 0.5 - 1.0 mL มาผสมกับสารละลายของสีย้อมที่รู้ปริมาณแน่นอนและปรับ pH ให้อยู่ในช่วง 2.2 - 2.4 ด้วย phosphate-citrate buffer ในกรณีที่ใช้สีย้อม amido black หรือ phosphate-acetate-propionate buffer ในกรณีที่ใช้สีย้อม Acid Orange 12 จากนั้นเขย่าให้เข้ากันอย่างน้อย 5 วินาที เพื่อให้ปฏิกิริยาเกิดอย่างสมบูรณ์

สีย้อมจะเข้าจับตัวกับโปรตีนเกิดเป็นสารเชิงซ้อนที่ไม่ละลายน้ำ โดยส่วนที่ไม่ละลายน้ำนี้สามารถแยกออกได้ด้วยการนำไปกรองหรือเซ็นทริฟิวจ์ การหาปริมาณสีย้อมที่เหลืออยู่ทำได้ด้วยการใช้เครื่อง UV-Vis spectrometer วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 550 - 610 nm สำหรับ amido black และ 480 nm สำหรับ Acid Orange 12

เมื่อได้ปริมาณสีย้อมที่เหลืออยู่แล้วจะสามารถหาปริมาณโปรตีนในสารตัวอย่างได้โดยนำปริมาณสีย้อมที่เหลืออยู่ไปเทียบใน calibration curve ที่สร้างโดยสีย้อมชนิดเดียวกัน และใช้ bovine serum albumin (BSA) เป็นสารมาตรฐาน

วิธีย้อมติดสีนี้มีข้อดีที่ใช้เวลาน้อยกว่าวิธีของเจลดาลห์มาก เนื่องจากมีขั้นตอนที่น้อยกว่าและปฏิกิริยาเกิดอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้ calibration curve ที่สร้างขึ้นเพียงอันเดียวสามารถนำไปใช้กับตัวอย่างเป็นปริมาณมากได้ ทำให้วิธีนี้สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้มากกว่า 10,000 ตัวอย่างต่อชั่วโมง และด้วยการที่มีขั้นตอนน้อยทำให้มีเครื่องมือสำเร็จรูปสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธีวิธีย้อมติดสีมาตั้งแต่ปี ค.ศ. 1960[43] อย่างไรก็ตาม แม้ปัจจุบัน เครื่องมือชนิดนี้ก็ยังมีราคาค่อนข้างแพง ซึ่งจะมีความคุ้มค่าก็ต่อเมื่อต้องทดสอบตัวอย่างเป็นปริมาณมากๆ

แม้ว่าวิธีย้อมติดสีจะไม่มีปัญหาในการวิเคราะห์ตัวอย่างนมที่มี NPN แต่วิธีนี้ก็ยังมีความเที่ยงและความแม่นน้อยกว่าวิธีของเจลดาลห์ ดังนั้นเมื่อต้องการใช้วิธีย้อมติดสีกับตัวอย่างที่ไม่เคยทดสอบมาก่อนก็ควรจะใช้ปริมาณโปรตีนที่ได้จากวิธีของเจลดาลห์เป็นค่าอ้างอิงด้วย[43]

วิธีย้อมติดสีก็เป็นอีกหนึ่งในวิธีมาตรฐานที่ได้รับการยอมรับจากห้องปฏิบัติการวิจัยอาหาร และมักถูกเลือกเป็นวิธีทางเลือก หรือวิธีเทียบเคียงนอกจากการใช้วิธีของเจลดาลห์ อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้ต้องอาศัยเครื่องมือที่มีราคาแพง เช่นสเปกโทรมิเตอร์และเครื่องเซนทริฟิวจ์ จึงไม่สามารถนำวิธีนี้มาสร้างเป็นชุดทดสอบให้ผู้บริโภคใช้ได้

IR spectroscopy

การใช้ IR spectroscopy ในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในน้ำนมนั้นจะอาศัยช่วงการดูดกลืนที่เรียกว่า “amide II” ซึ่งอยู่ในช่วงประมาณ 1550 cm^{-1} ใน IR spectrum ซึ่งเป็นช่วงการดูดกลืนของพันธะเอไมด์ในโปรตีนมาเทียบเป็นปริมาณผ่าน calibration curve ซึ่งค่าที่ได้ต้องนำมาปรับแก้ด้วยตัวแปรหลาย ๆ ค่าเนื่องจากองค์ประกอบอื่นในน้ำนมนั้นสามารถรบกวนการวิเคราะห์ได้[43] อย่างไรก็ตาม ด้วยเครื่องมือสมัยใหม่ทำให้การปรับแก้นั้นค่อนข้างอัตโนมัติทำให้ผู้ใช้งานไม่เสียเวลาในการวิเคราะห์มากนัก

การวิเคราะห์สามารถทำได้โดยนำตัวอย่างมาอุ่นที่ 40 °C และทำให้เป็นเนื้อเดียวด้วย Ultrasonic Homogenizer จากนั้นจึงนำไปวัดด้วย IR spectrometer ที่ทำการสอบเทียบแล้ว แต่โดยทั่วไปแล้ว ในปัจจุบันห้องปฏิบัติการที่รับวิเคราะห์อาหารส่วนใหญ่มักจะใช้ IR spectrometer ที่ได้รับการออกแบบมาสำหรับวิเคราะห์น้ำนมโดยเฉพาะ เช่น Milko-Scan ของบริษัท Foss Electric หรือ Dairy Lab ของบริษัท Multispec มากกว่าที่จะใช้ IR spectrometer ทั่วไป โดยการใช้ IR spectrometer ก็จะมีหลายรูปแบบและเทคนิคที่เกี่ยวข้อง ซึ่งเป็นเรื่องที่ซับซ้อน และจะไม่ขอกล่าวไว้ในที่นี้

วิธีวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วย IR spectroscopy นั้นมีข้อดีหลายอย่าง เช่นสามารถวิเคราะห์ปริมาณไขมันและแลคโตสไปพร้อมกันได้, มีความแม่นใกล้เคียงกับวิธีของเจลดาลห์ และใช้เวลาทดสอบน้อย อย่างไรก็ตามวิธีการวิเคราะห์นี้จำเป็นต้องใช้ทักษะในการเตรียมตัวอย่างและการใช้เครื่องมือ นอกจากนี้ยังต้องอาศัยเครื่องมือที่มีราคาค่อนข้างแพง

2.2.3.4 Lowry method

วิธีของลาวรี่นั้นถูกพัฒนาขึ้นเมื่อปี 1951 โดย Oliver Lowry[47] โดยอาศัยปฏิกิริยาสองขั้นตอน โดยในขั้นตอนแรก คอปเปอร์(II)ไอออนจะเข้าจับกับพันธะเปปไทด์บนสายโปรตีนและถูกออกซิไดส์ด้วยพันธะเปปไทด์เกิดเป็นสารเชิงซ้อนระหว่างโปรตีนกับคอปเปอร์(I)ไอออน จากนั้นกรดอะมิโนที่มีโซ่ข้างเป็นหมู่อะโรมาติกจะรีดิวซ์ phosphomolybdotungstate ให้กลายเป็น heteropolymolybdenum blue ซึ่งมีสีน้ำเงินเข้ม โดยมีคอปเปอร์(I)ไอออนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธีของลาวรี่นั้นสามารถทำได้โดยเตรียมสารละลายดังนี้

1) 2% (w/v) Na_2CO_3 ใน 0.1 M NaOH
2) 1% sodium tartrate หรือ potassium tartrate
3) 0.5% $CuSO_4 \cdot 5H_2O$
4) ผสมสาร ๑) 48 mL กับ ๒) 1 mL และ ๓) 1 mL
5) Folin-Ciocalteu reagent 1 N (ทำการไตเตรทเพื่อหาความเข้มข้น แล้วจึงเจือจางให้ได้ 1 N)

โดยสารละลาย 1), 2) และ 3) นั้นสามารถเก็บไว้ได้เรื่อยๆ โดยไม่เสื่อมสภาพ ในขณะที่สารละลาย 4) นั้นจะมีอายุการใช้งานอยู่ได้เพียงประมาณหนึ่งวัน จึงควรเตรียมใหม่ทุกครั้ง สำหรับสารละลาย 5) นั้นควรหาความเข้มข้นที่แน่นอนก่อนนำมาใช้ทุกครั้ง

หลังจากนั้นให้เจือจางสารตัวอย่างให้มีความเข้มข้นต่ำกว่า 2 mg/mL แล้วผสมสารตัวอย่างที่เจือจางแล้วปริมาตร 0.50 mL กับสารละลาย 4) 2.0 mL เมื่อทิ้งไว้ 10 นาทีแล้วจึงตามด้วยสารละลาย 5) 0.20 mL เขย่าให้เข้ากันอย่างรวดเร็วและทิ้งไว้อีก 30 นาที จึงนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 nm ซึ่งสามารถนำมาหาปริมาณได้จาก calibration curve ที่สร้างจาก BSA

วิธีของลาวรี่นั้นมีความแม่นยำและความเที่ยงตรงค่อนข้างสูง แม้จะไม่เทียบเท่าสามวิธีที่ได้กล่าวไว้ก่อนหน้า แต่วิธีของลาวรีนั้นเป็นวิธีที่ค่อนข้างง่ายกว่ามาก ผู้ทำการวิเคราะห์ไม่ต้องใช้ทักษะมากนัก อย่างไรก็ตามวิธีนี้ก็ยังต้องอาศัยเครื่องสเปกโทรมิเตอร์ในการวัดค่าการดูดกลืนแสงอยู่

Biuret test

การทดสอบไบยูเร็ตนั้นเป็นวิธีทดสอบโปรตีนที่ง่ายที่สุดวิธีหนึ่ง หลักการของการทดสอบไบยูเร็ตนั้นคือการที่คอปเปอร์(II)ไอออนสามารถเกิดเป็นสารเชิงซ้อนกับพันธะเปปไทด์บนสายโปรตีน ซึ่งให้สีม่วงเข้มได้ วิธีนี้ยังเป็นรากฐานของวิธีวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนของลาวรี่อีกด้วย

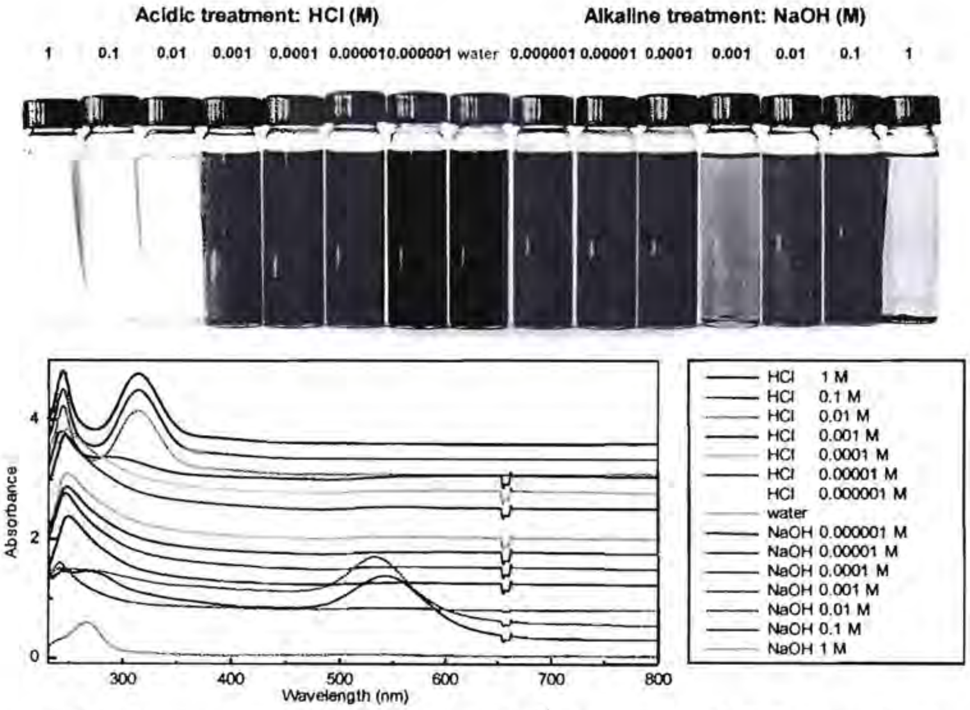
วิธีทดสอบไบยูเร็ตก็คือ เตรียมสารทดสอบไบยูเร็ตด้วยการผสม 3 mL ของ 10% (w/v) NaOH และ 5 mL ของสารละลายที่มี 0.3% CuSO4 และ 1.2% Sodium tartrate อยู่ สารทดสอบไบยูเร็ตนี้สามารถเก็บไว้ได้นาน 2-3 เดือน

เมื่อได้สารทดสอบไบยูเร็ตแล้วสามารถทำการวิเคราะห์ได้ด้วยการผสมสารทดสอบไบยูเร็ตกับสารตัวอย่าง ถ้าหากสารตัวอย่างมีโปรตีนอยู่จะให้สีม่วงเกิดขึ้น ซึ่งสามารถนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 nm และเทียบเป็นความเข้มข้นของโปรตีนได้

ปัญหาของการทดสอบไบยูเร็ตคือสารจำนวนมากสามารถรบกวนการทดสอบได้ เช่นซูโครส ทำให้สามารถปลอมปนน้ำนมเพื่อหลอกการทดสอบไบยูเร็ตได้ง่าย นอกจากนี้วิธีการนี้ยังจำเป็นต้องใช้สเปกโทรมิเตอร์ซึ่งมีราคาแพงจึงจะวิเคราะห์เชิงปริมาณได้ มิฉะนั้นจะทำได้เพียงวิเคราะห์เชิงคุณภาพเท่านั้น

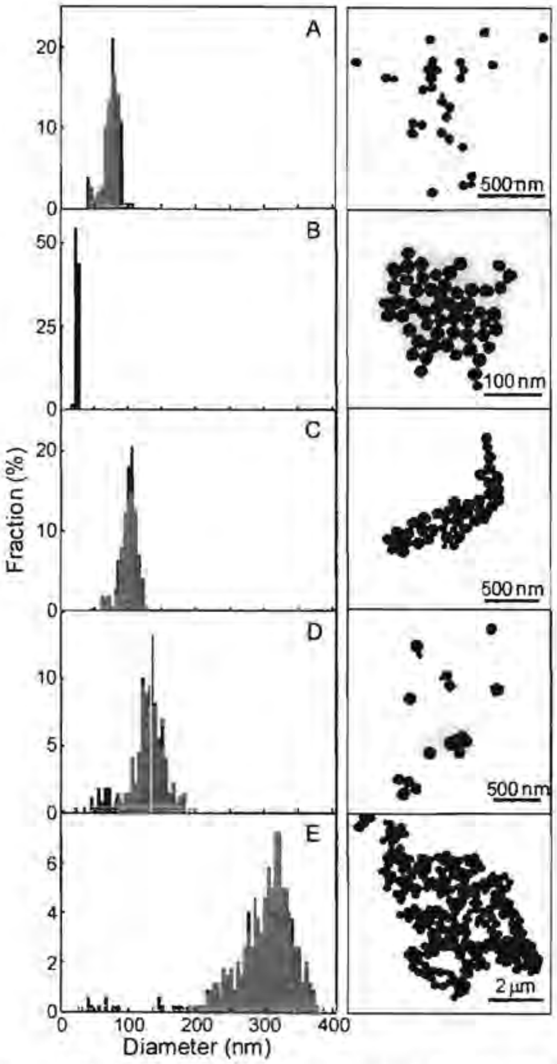
7.3 ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง

โครงสร้างระดับนาโนเมตรของทองคำสามารถสังเคราะห์ได้ด้วยกรรมวิธีที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมผ่านกระบวนการรีดิวซ์ด้วยสารเคมี โดยใช้กรดเตตระคลอโรออริกซึ่งเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของไอออนของโลหะทองคำเป็นสารตั้งต้นและใช้สารละลายแป้งเป็นตัวรีดิวซ์ การควบคุมความเป็นกรด – ด่างของสารละลายจะทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนของไอออนโลหะทองคำที่ต่างกันซึ่งมีศักย์รีดักชันต่างกันส่งผลให้ไอออนโลหะทองถูกรีดิวซ์ได้ง่ายยากแตกต่างกันไปด้วย นอกจากนี้ความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ของแป้งจะเพิ่มขึ้นเมื่อถูกทำให้เสียสภาพในสภาวะด่าง



รูปที่ 11 คอลลอยด์ของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองคำที่สังเคราะห์โดยใช้โพลีแซคคาไรด์ในสภาวะต่างเป็นตัวรีดิวซ์ความเข้มข้น 100 ส่วนในล้านส่วน

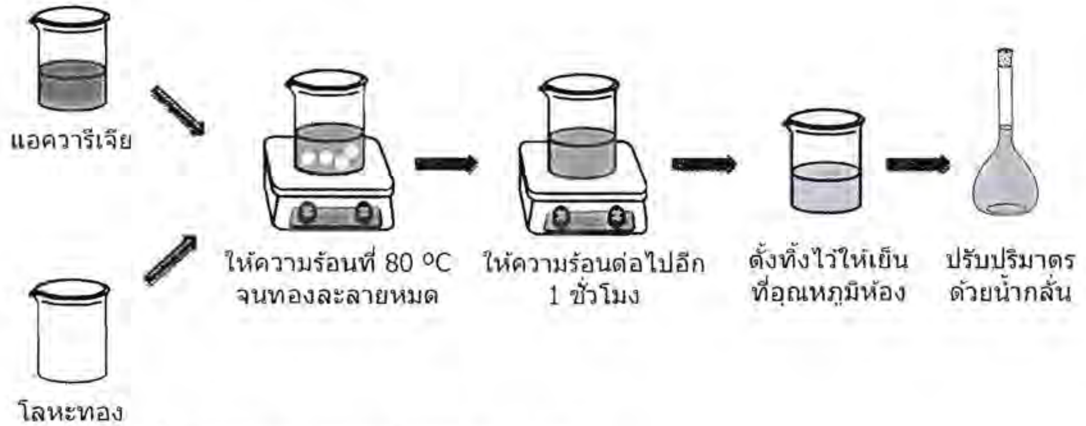
โครงสร้างระดับนาโนเมตรของทองคำสามารถสังเคราะห์ได้ด้วยกรรมวิธีการนี้มีทั้งที่รูปร่างเป็นทรงกลมและเป็นแผ่นบางหลายเหลี่ยม เช่น แผ่นสามเหลี่ยม แผ่นสามเหลี่ยมยอดตัด แผ่นสี่เหลี่ยมคางหมู แผ่นห้าเหลี่ยม แผ่นหกเหลี่ยม เป็นต้น โดยอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองคำที่เป็นทรงกลมสามารถควบคุมขนาดให้อยู่ในช่วง 20 – 300 นาโนเมตรได้ และมีการกระจายตัวของขนาดที่แคบ ดังแสดงในรูปที่ 3.14 โดยในการสังเคราะห์อนุภาคระดับนาโนเมตรที่เป็นทรงกลมนี้ต้องบังคับให้ปฏิกิริยารีดักชันเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วเพื่อให้ไอออนของโลหะทองคำถูกรีดิวซ์และรวมตัวเป็นอนุภาคแล้วโตหรือมีขนาดใหญ่ขึ้นอย่างเท่าๆ กันในทุกทิศทุกทาง ท้ายที่สุดจะได้อนุภาคที่มีลักษณะเป็นทรงกลม



รูปที่ 12 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองคำที่สังเคราะห์ได้ภายใต้เงื่อนไขต่างๆ โดยสามารถควบคุมของอนุภาคให้มีขนาดได้ตั้งแต่ 20 – 300 นาโนเมตร และมีการกระจายตัวของอนุภาคที่แคบ

การสังเคราะห์สารละลาย $HAuCl_4$ 100,000 ppm

การสังเคราะห์ $HAuCl_4$ สามารถทำได้โดยในขั้นตอนแรกเตรียมแอควารีเจีย (กรดกัดทอง) จากกรดไฮโดรคลอริคเข้มข้น 45 mL ผสมกับกรดไนตริกเข้มข้น 15 mL หลังจากนั้นชั่งโลหะทองคำ 10.00 g ล้างด้วยน้ำกลั่นและเทผสมกับแอควารีเจียปริมาณ 30 mL แล้วนำไปอุ่นที่ 80 °C จะเห็นว่าขนาดของเม็ดทองคำเล็กลงเล็กน้อย ให้ความร้อนต่อไปจนปริมาตรสารละลายเหลือ 20 mL ให้เติมแอควารีเจียเพิ่มลงไปอีก 10 mL แล้วให้ความร้อนต่อไปอีกจนเหลือปริมาตร 20 mL ก็ให้เติมแอควารีเจียลงไปอีกครั้ง ทำซ้ำจนโลหะทองคำละลายจนหมด เมื่อโลหะทองคำละลายจนหมดแล้วจึงให้ความร้อนต่อไปอีก 1 ชั่วโมงเพื่อไล่ NO_3^- และ N_2O_4 ที่เหลืออยู่ในสารละลายออกให้หมด นำสารละลายมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง และปรับปริมาตรเป็น 100.00 mL ด้วยน้ำกลั่นจะได้สารละลาย $HAuCl_4$ 100,000 ppm เพื่อนำไปใช้ในปฏิกิริยาต่อ ๆ ไป



รูปที่ 13 แสดงขั้นตอนการสังเคราะห์สารละลาย $HAuCl_4$

การใช้น้ำนมเป็นตัวรีดิวซ์ให้เกิดอนุภาคนาโนของทอง

ในแนวทางนี้เราจะใช้นมเป็นตัวรีดิวซ์ $HAuCl_4$ ให้เกิดเป็นอนุภาคนาโนของทองโดยคาดหวังว่าความเข้มข้นของนมที่ต่างกันจะให้อนุภาคนาโนของทองที่มีขนาดต่างกัน ซึ่งนำไปสู่สีที่แตกต่างกันและทำให้เราหาความเข้มข้นของนมอย่างคร่าว ๆ จากสีที่เกิดขึ้นได้ โดยสิ่งที่ต้องทำคือหาเงื่อนไขของปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดสีที่แยกแยะได้ภายในเวลาต่ำกว่า 15 นาทีตามวัตถุประสงค์ของงานวิจัย จากนั้นจึงทำการพิสูจน์เอกลักษณ์ของอนุภาคนาโนของทองที่ได้เพื่ออธิบายปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้น

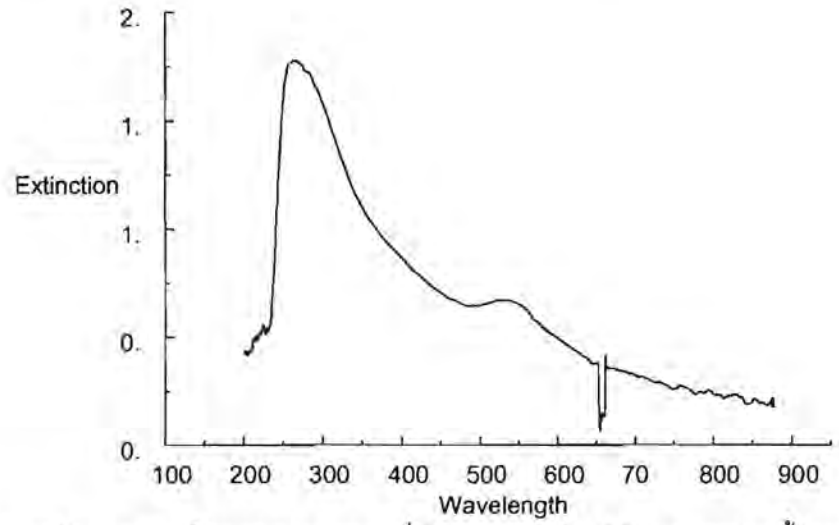
การหา pH ที่เหมาะสมของ $HAuCl_4$

การหา pH ที่เหมาะสมของ $HAuCl_4$ สามารถทำได้โดยเตรียม $HAuCl_4$ ความเข้มข้น 2000 ppm ที่ pH 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 อย่างละ 5.0 mL จากนั้นจึงเทผสมกับนมที่เจือจาง 10 เท่าปริมาณ 10.0 mL ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 6 ชั่วโมงแล้วสังเกตสีที่ได้ด้วยตาเปล่า และวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย UV-Vis สเปกโทรมิเตอร์เพื่อยืนยันการเกิดอนุภาคนาโนของทอง

ซึ่งผลการปรับ pH ของ $HAuCl_4$ พบว่าที่ pH 3 นั้นมีสีม่วงปรากฏขึ้นชัดเจนหลังจากตั้งทิ้งไว้ 6 ชั่วโมง ดังรูปที่ 4.1 สำหรับที่ pH ของ $HAuCl_4$ เท่ากับ 5 นั้นสารละลายมีสีแดงขึ้นเล็กน้อย ในขณะที่ pH อื่น ๆ นั้นไม่ให้สีของอนุภาคนาโนของทอง (สีเหลืองที่เกิดขึ้นนั้นเป็นสีปกติของ $HAuCl_4$ ที่มี pH ต่ำกว่า 10 และการตกตะกอนนั้นก็เกิดขึ้นจากโปรตีนเคซีนซึ่งมีค่า isoelectric point = 4.2)

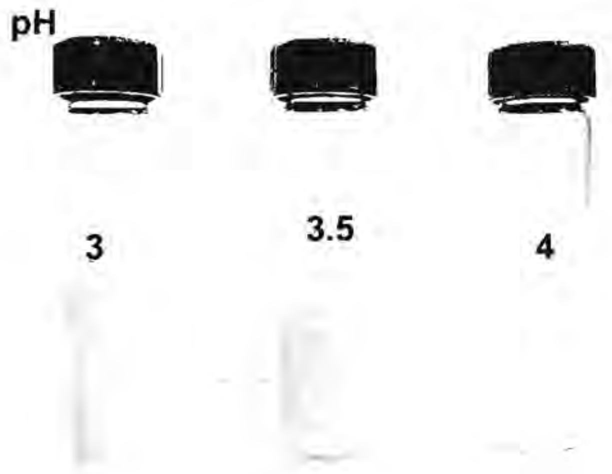
รูปที่ 14 แสดงสีของสารละลายที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างนมและ $HAuCl_4$ เมื่อปรับ pH ของ HAuCl4 ไปที่ 1,3,5,7,9,11,13 ที่เวลา 6 ชั่วโมง

จากการวัดสเปกตรัมการดูดกลืนด้วย UV-Vis สเปกโทรมิเตอร์ พบว่าที่ pH ของ $HAuCl_4$ เท่ากับ 3 มีพีคเอกลักษณ์ของอนุภาคนาโนของทองปรากฏที่ 540 nm ซึ่งช่วยยืนยันว่ามีอนุภาคนาโนของทองเกิดขึ้น



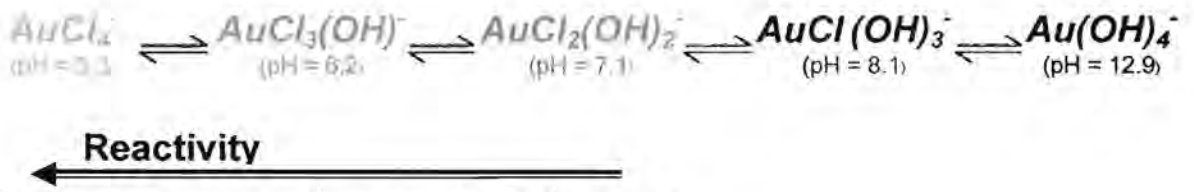
รูปที่ 15 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนของสารละลายที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างน้ำนมและ $HAuCl_4$ เมื่อปรับ pH ของ $HAuCl_4$ ไปที่ pH3

แสดงว่า pH ของ $HAuCl_4$ ที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาให้เกิดเป็นอนุภาคนาโนของทองอยู่นั้นในช่วง pH ประมาณ 3 จึงทำการทดลองซ้ำเพื่อหา pH ที่เหมาะสมอย่างละเอียดด้วยการทำการทดลองเช่นเดิมแต่เปลี่ยน pH ของ $HAuCl_4$ ไปที่ 3, 3.5 และ 4 ตามลำดับ พบว่า ที่ pH 3.5 ปฏิกิริยาเกิดได้รวดเร็วที่สุด คือเริ่มเกิดสีม่วงที่เวลา 90 นาที ดังรูปที่ 4.3 โดยที่ pH 3 และ 4 นั้นจะใช้เวลาในการทำปฏิกิริยาจนเริ่มเกิดสีม่วงเท่ากับ 98 และ 105 นาทีตามลำดับ ทั้งนี้ pH 3.5 ที่กล่าวถึงนั้นเป็นเพียงแค่ค่าประมาณเท่านั้น เพราะใช้กระดาษยูนิเวอแซลอินดิเคเตอร์ในการทดสอบ



รูปที่ 16 แสดงสีของสารละลายที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างนมและ $HAuCl_4$ เมื่อปรับ pH ของ HAuCl4 ไปที่ 3, 3.5, 4 ที่เวลา 1.5 ชั่วโมง

การที่ pH ของ $HAuCl_4$ นั้นมีผลต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยาสามารถอธิบายได้โดยการแทนที่ลิแกนด์ของ $HAuCl_4$ ที่ pH ต่าง ๆ โดยที่ pH เท่ากับหรือต่ำกว่า 3.3 $HAuCl_4$ เกือบทั้งหมดจะอยู่ในรูป $AuCl_4^-$ และเมื่อ pH มากขึ้น รูปแบบหลักก็จะเปลี่ยนเป็น $AuCl_3(OH)^-$, $AuCl_3(OH)^-$, $AuCl_3(OH)^-$, $Au(OH)_4^-$ ที่ pH เท่ากับ 6.2, 7.1, 8.1 และ 12.9 ตามลำดับ ซึ่งในงานวิจัยของ Ji และคณะ[20] ก็ได้กล่าวไว้ว่ารีแอ็คทิวิตีในการถูกรีดิวซ์จนกลายเป็นอนุภาคนาโนของทองนั้นจะมีค่าต่ำลงเมื่อหมู่คลอไรด์ใน $AuCl_4^-$ ถูกเปลี่ยนเป็นหมู่ไฮดรอกไซด์ ในขณะที่งานวิจัยของ Zhang และคณะ[48] ก็ได้อธิบายว่าค่าศักย์ไฟฟ้ารีดักชันของ $AuCl_4^-$ นั้นมีค่า 0.760 V (เทียบกับขั้วไฟฟ้ามาตรฐานคาโลเมล) และจะมีค่าต่ำลงเมื่อ pH มีค่ามากขึ้นเนื่องจากมีการเปลี่ยนรูปจากทองคลอไรด์เป็นทองไฮดรอกไซด์ แสดงว่า $HAuCl_4$ นั้นถูกรีดิวซ์ได้ง่ายกว่าที่ pH ต่ำ ๆ นั่นเอง



รูปที่ 17 แสดงแผนภาพการเปลี่ยนรูปของ $HAuCl_4$ ที่ pH ต่าง ๆ

มีข้อสังเกตหนึ่งเกี่ยวกับการเปลี่ยนรูปของ $HAuCl_4$ ที่ pH ต่าง ๆ คือการเปลี่ยนรูปไม่ได้เกิดจากการแทนที่หมู่คลอไรด์ด้วยหมู่ไฮดรอกไซด์โดยตรง แต่เกิดจากการแทนที่หมู่คลอไรด์ด้วยน้ำ หลังจากนั้นจึงเกิดการดึงโปรตรอนออกจากน้ำได้เป็นหมู่ไฮดรอกไซด์ ดังสมการต่อไปนี้[48]

$$AuCl_x(OH)_{4-x}^- + H_2O \longrightarrow AuCl_{x-1}(H_2O)(OH)_{4-x}^- + Cl^-$$
$$AuCl_{x-1}(H_2O)(OH)_{4-x} \longrightarrow AuCl_{x-1}(OH)_{4-(x+1)} + H^+$$

การที่ $HAuCl_4$ นั้นอยู่ในรูปที่ถูกรีดิวซ์ได้ง่ายที่สุดที่ pH 3.3 หรือต่ำกว่าทำให้เมื่อปรับ pH ของ $HAuCl_4$ ไปที่ 3 สีม่วงของอนุภาคนาโนของทองที่เกิดจากปฏิกิริยารีดักชันจึงเกิดขึ้นได้เร็วกว่าที่ pH อื่น ๆ ที่สูงกว่า อย่างไรก็ตาม การอธิบายผลการทดลองซึ่งพบว่าที่ pH เท่ากับ 1 นั้นเกิดปฏิกิริยาได้ช้ากว่าที่ pH เท่ากับ 3 และการที่ปฏิกิริยาเกิดได้เร็วที่สุดที่ pH ของ $HAuCl_4$ เท่ากับ 3.5 นั้นต้องอาศัยคำอธิบายเรื่องแอคทิวิตีของนมในการเป็นตัวรีดิวซ์ร่วมด้วย ซึ่งจะอธิบายไว้ในข้อ 3.3.2

pH ที่เหมาะสมของการวิเคราะห์น้ำนม

ทำการหา pH ที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาของน้ำนมด้วยการเตรียม $HAuCl_4$ ความเข้มข้น 500 ppm ที่ pH 3.5 ปริมาณ 5 mL จำนวน 6 ชุด จากนั้นเตรียมน้ำนมที่เจือจาง 5 เท่าใน NaOH ความเข้มข้น 4, 3.5, 3, 2.5, 2, 1.5 M ปริมาณ 5 mL เทผสม $HAuCl_4$ กับน้ำนมและเขย่าให้เข้ากัน จากนั้นจึงสังเกตการเปลี่ยนสีด้วยตาเปล่า

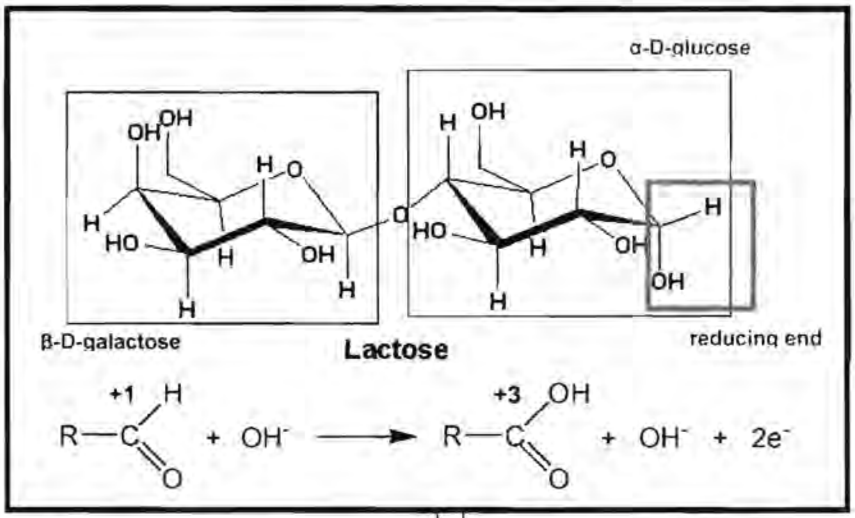
ผลการศึกษาพบว่าที่ความเข้มข้นของ NaOH เท่ากับ 1.5 - 3 M นั้นอัตราเร็วของการเกิดปฏิกิริยา (สังเกตได้จากสีม่วงที่เกิดขึ้น) จะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ NaOH เพิ่มขึ้น แต่ที่ความเข้มข้นมากกว่า 3 M นั้นไม่มีความแตกต่าง แสดงให้เห็นว่าที่ pH ที่มี NaOH ความเข้มข้นเท่ากับ 3 M เป็น pH ที่มีความเหมาะสมที่สุดในการทำให้ปฏิกิริยา

รูปที่ 18 แสดงสีของสารละลายที่ได้จากการทำปฏิกิริยาระหว่าง $HAuCl_4$ ที่ pH 3 และนมที่เจือจางใน NaOH 4, 3.5, 3, 2.5, 2 และ 1.5 M ที่เวลา 5 นาที

การจะอธิบายถึงสาเหตุที่การเพิ่ม pH นั้นทำให้ปฏิกิริยาเกิดเร็วขึ้นต้องเริ่มจากการหาสารเคมีในน้ำนมที่ทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์ก่อน จากตาราง 2.1 ซึ่งแสดงองค์ประกอบของน้ำนม จะเห็นว่าสารที่น่าจะทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์ได้มีเพียงแค่โปรตีนและน้ำตาลแลคโตสเท่านั้น เนื่องจากไขมันนั้นไม่มีหมู่ฟังก์ชันใด ๆ ที่สามารถเป็นตัวรีดิวซ์ได้ ในขณะที่วิตามินต่าง ๆ แม้จะสามารถเป็นตัวรีดิวซ์ได้ แต่ก็มีปริมาณน้อยเกินไป

แลคโตสนั้นเป็น reducing sugar และศักยภาพในการรีดิวซ์ของแลคโตสนั้นมาจากปลายเปิดที่สามารถเปิดวงกลายเป็นหมู่อัลดีไฮด์ได้ ปฏิกิริยาที่เป็นที่รู้จักดีที่สามารถตรวจสอบความสามารถในการเป็น

ตัวรีดิวซ์ของหมู่อัลดีไฮด์ก็คือ tollen's test ซึ่งทดสอบว่าสารตัวอย่างจะรีดิวซ์ไอออนของเงินให้เกิดเป็นกระจกเงินได้หรือไม่ จากรูปที่ 4.6 จะเห็นว่าในปฏิกิริยานี้หมู่อัลดีไฮด์จะถูกออกซิไดซ์จนกลายเป็นหมู่คาร์บอกซิลิกด้วยไฮดรอกไซด์ไอออน แล้วอิเล็คตรอนที่ได้จึงไปรีดิวซ์ไอออนของเงินอีกทีหนึ่ง ความเข้มข้นของไฮดรอกไซด์ไอออนจึงส่งผลต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยา โดยยิ่งความเข้มข้นของไฮดรอกไซด์ไอออนสูง ปฏิกิริยาก็จะเกิดได้เร็ว



รูปที่ 19 แสดงโครงสร้างของแลคโตสและหมู่ฟังก์ชันที่เกี่ยวข้องในการเป็นตัวรีดิวซ์

เพื่อเป็นการยืนยันว่าแลคโตสสามารถทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์ได้ในระบบดังกล่าว จึงทำการทดลองด้วยระบบเดียวกันที่ความเข้มข้นของ NaOH เท่ากับ 3 M และใช้แลคโตสความเข้มข้นเดียวกับที่มีอยู่ในน้ำนมแทนน้ำนม พบว่าเกิดสีม่วงขึ้นทันทีในสารละลาย (ซึ่งเร็วกว่าการเกิดสีเมื่อใช้นมเป็นตัวรีดิวซ์) การทดลองนี้ช่วยยืนยันว่า แลคโตสสามารถทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์ในระบบดังกล่าวได้ และแลคโตสเป็นตัวรีดิวซ์หลักในระบบ

รูปที่ 20 แสดงสีของสารละลายเมื่อใช้แลคโตสเป็นตัวรีดิวซ์

แม้การทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าแลคโตสนั้นเป็นตัวหลักที่ทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์ แต่เราก็ยังสามารถใช้วิธีนี้ในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนได้อยู่ เพราะจากฐานข้อมูล USDA จะเห็นว่าอัตราส่วนปริมาณระหว่างแลคโตสและโปรตีนนั้นมีค่าค่อนข้างคงที่ การหาปริมาณแลคโตสได้จึงทำให้สามารถหาปริมาณโปรตีนได้ด้วย นอกจากนี้แลคโตสยังมีราคาแพงกว่าน้ำนม ทำให้ไม่จำเป็นต้องกังวลเรื่องการเติมแลคโตสเพื่อลวงผลการทดสอบด้วย

จากการทดลองหาค่า pH ที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาของ $HAuCl_4$ และน้ำนม ทำให้เราได้เงื่อนไขที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาที่เร็วที่สุดคือ ต้องให้ $HAuCl_4$ มี pH ต่ำก่อนการผสมเพื่อให้อยู่ในรูป $AuCl_4^-$ ซึ่งมีแอคทิวิตีสูงที่สุด และให้สารละลายหลังผสมมีสภาวะเป็นเบส เพื่อให้แลคโตสสามารถถูกออกซิไดซ์ได้อย่างรวดเร็ว ซึ่งเงื่อนไขที่เหมาะสมที่สุดคือ pH ของ $HAuCl_4$ ที่ 3 - 3.5 (หากสูงกว่านี้จะทำให้สารละลายหลังผสมเป็นเบสไม่เพียงพอ) และน้ำนมที่มี NaOH ความเข้มเข้น 3 M

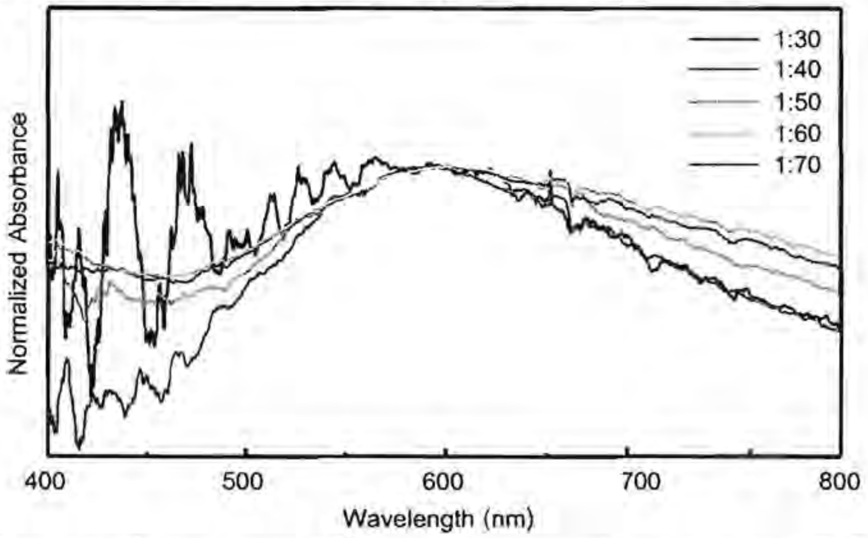
การใช้เงื่อนไขของปฏิกิริยาที่ได้ในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในนม

นำเงื่อนไขของปฏิกิริยาที่ได้มาใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยการเตรียม $HAuCl_4$ ความเข้มข้น 500 ppm ที่ pH 3.5 ปริมาณ 5 mL จำนวน 8 ชุด จากนั้นเตรียมน้ำนมที่เจือจาง 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 เท่าใน NaOH 3 M สังเกตความแตกต่างของสีด้วยตาเปล่าและ UV-Vis สเปกโทรมิเตอร์ที่เวลา 10 นาที

การทำปฏิกิริยาโดยใช้น้ำนมที่มีอัตราส่วนการเจือจางแตกต่างกันออกไปพบว่า สามารถใช้ปฏิกิริยาดังกล่าวในการบอกอัตราส่วนการเจือจางของน้ำนมได้ โดยหากอัตราส่วนการเจือจางต่ำกว่า 1:70 (ความเข้มข้นของโปรตีนต่ำกว่า 0.046%) นั้นสารละลายจะให้สีฟ้า ในขณะที่อัตราส่วนการเจือจางของน้ำนมที่สูงกว่า 1:30 (ความเข้มข้นของโปรตีนสูงกว่า 0.11%) จะให้สีม่วงเข้ม และอัตราส่วนการเจือจางระหว่าง 1:40 - 1:60 (ความเข้มข้นของโปรตีน 0.081-0.054%) จะให้สีผสมระหว่างสีม่วงกับสีฟ้าได้เป็นสีน้ำเงินเทาดังที่แสดงไว้ในรูป 4.8

รูปที่ 21 แสดงสีของสารละลายที่เกิดจากการผสมระหว่าง $HAuCl_4$ ความเข้มข้น 500 ppm pH 3 ปริมาตร 5 mL กับน้ำนมที่เจือจางด้วยอัตราส่วน 1:10 - 1:80 ใน NaOH 3 M ปริมาณ 5 mL ที่เวลา 10 นาที

การเกิดสีที่ต่างกันนั้นสามารถวิเคราะห์ได้จากสเปกตรัม UV-Vis (รูป 3.10) จะเห็นว่าเมื่อน้ำนมถูกเจือจางมากขึ้น ค่าการดูดกลืนในช่วงความยาวคลื่นมาก (700-800 nm) จะสูงขึ้น ทำให้สารละลายมีสีออกฟ้าและแสดงให้เห็นว่าอนุภาคนาโนของทองที่เกิดขึ้นนั้นมีขนาดใหญ่ขึ้น ซึ่งการที่อนุภาคนั้นมีขนาดใหญ่ก็เกิดจากการที่นมถูกเจือจางมาก ส่งผลให้ความเข้มข้นตัวรีดิวซ์ลดลง ปฏิกิริยาจึงเกิดช้าลง เมื่อปฏิกิริยาเกิดได้ช้าก็ทำให้เกิดอนุภาคเล็ก ๆ (seed) ได้น้อย แต่เกิดการโตขึ้นของอนุภาค (growth) แทนนั่นเอง



รูปที่ 22 สเปกตรัมการดูดกลืนของสารละลายที่เกิดจากการผสมระหว่าง $HAuCl_4$ ความเข้มข้น 500 ppm pH 3 ปริมาตร 5 mL กับน้ำนมที่เจือจางด้วยอัตราส่วน 1:30 - 1:70 ใน NaOH 3 M ปริมาณ 5 mL ที่เวลา 10 นาที

การลดความเข้มข้นของ $HAuCl_4$

เนื่องจาก $HAuCl_4$ นั้นสังเคราะห์มาจากโลหะทองซึ่งมีราคาแพง ดังนั้นการพัฒนาระบบโดยลดความเข้มข้นของ $HAuCl_4$ ที่ใช้ลงก็จะทำให้ค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ลดลงด้วย อย่างไรก็ตามการลดความเข้มข้นลงก็อาจจะทำให้เห็นสีของอนุภาคนาโนของทองได้ไม่ชัด ความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดจึงเป็นความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่ยังทำให้เห็นสีของอนุภาคนาโนของทองได้ชัดเจนโดยยังคงบ่งบอกปริมาณโปรตีนในนมได้ และต้องใช้เวลาในการวิเคราะห์ต่ำกว่า 15 นาทีตามวัตถุประสงค์ของงานวิจัยด้วย

การหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ $HAuCl_4$ สามารถทำได้โดยใช้เงื่อนไขเดียวกับการวิเคราะห์ในข้อ 3.3.3 โดยใช้น้ำนมที่เจือจาง 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 เท่าใน NaOH 3 M แต่ลดความเข้มข้นของ $HAuCl_4$ ให้เหลือเพียง 400 และ 200 ppm

จากการทดลองลดความเข้มข้นของ $HAuCl_4$ ที่ใช้ พบว่าที่ ความเข้มข้น 200 ppm นั้นจะให้สีของสารละลายเป็นสีเทาทั้งหมด ทำให้ไม่สามารถบอกความเข้มข้นของนมได้ โดยความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่ยังให้สีที่สามารถแยกแยะอัตราส่วนการเจือจางของนมได้นั้นจะอยู่ที่ 400 ppm ซึ่งคิดเป็นค่าใช้จ่ายทั้งหมด 2.99 บาทต่อการวิเคราะห์หนึ่งตัวอย่าง

รูปที่ 23 แสดงสีของสารละลายที่เกิดจากปฏิกิริยาของ $HAuCl_4$ ที่ความเข้มข้น 200 ppm จะเห็นว่า สีของสารละลายเป็นสีเทาทั้งหมด ทำให้ไม่สามารถใช้บ่งบอกอัตราส่วนการเจือจางของน้ำนมได้

รูปที่ 24 แสดงสีของสารละลายที่เกิดจากปฏิกิริยาของ $HAuCl_4$ ที่ความเข้มข้น 400 ppm ซึ่งให้ผลใกล้เคียงกับที่ความเข้มข้น 500 ppm

การใช้น้ำนมตัวควบคุมการเกาะตัวกันของอนุภาคนาโนของทอง

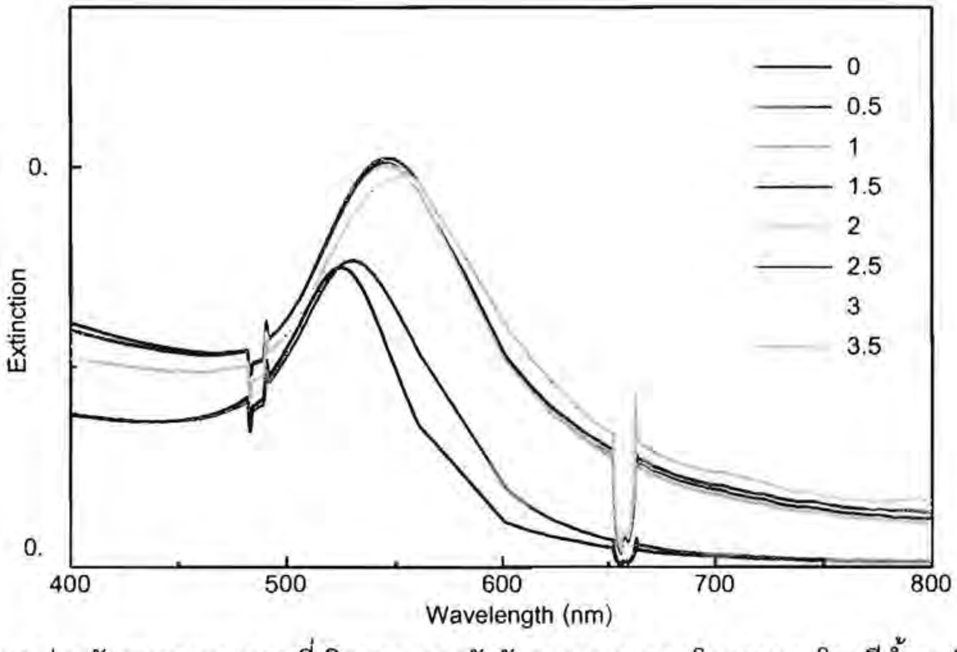
สำหรับแนวทางการใช้น้ำนมเป็นตัวควบคุมการเกาะตัวกันของอนุภาคนาโนของทองนั้น จะอาศัยปรากฏการณ์การเกาะตัวกันของอนุภาคนาโนของทองที่มีแป้งเป็นสารช่วยเสถียรเมื่ออยู่ในสภาวะกรด และใช้โปรตีนในน้ำนมเป็นตัวยับยั้งปรากฏการณ์นี้ โดยคาดหวังว่าความเข้มข้นของโปรตีนที่ไม่เท่ากันจะยับยั้งการเกาะตัวกันได้ไม่เท่ากันและทำให้เกิดสีที่แตกต่างกันได้

การหา pH ที่เหมาะสมในการทำให้เกิดการเกาะตัว

การ pH ที่เหมาะสมจะทำโดยการเตรียมอนุภาคนาโนของทองขนาด 20 nm ที่มีแป้งเป็นสารช่วยเสถียรที่มีความเข้มข้น 200 pm ปริมาณ 1 mL ผสมกับน้ำนมที่เจือจาง 200 เท่าปริมาณ 1 mL ไว้ 8 ชุด จากนั้นจึงเทผสมกับกรดไฮโดรคลอริคความเข้มข้น 3.5, 3, 2.5, 2, 1.5, 1, 0.5, 0 M ปริมาตร 8 mL จากนั้นจึงสังเกตสีที่เปลี่ยนไปด้วยตาเปล่า และวิเคราะห์สเปกตรัมการดูดกลืนด้วย UV-Vis สเปกโทรมิเตอร์

จากการสังเกตด้วยตาเปล่าพบว่าสีของสารละลายมีแนวโน้มที่จะเปลี่ยนเป็นสีม่วงมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริคเพิ่มขึ้น ดังรูปที่ 4.12 โดย UV-Vis สเปกตรัมบ่งบอกว่าค่าการดูดกลืนสูงสุดมีแนวโน้มที่จะเคลื่อนจาก 520 nm ไปยังความยาวคลื่นที่มากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของกรดสูงขึ้น

รูปที่ 25 แสดงสีของสารละลายที่เกิดจากการเกาะตัวกันของอนุภาคนาโนของทองโดยมีน้ำนมที่อัตราส่วนการเจือจาง 1:200 เป็นตัวควบคุม ในสารละลายที่มีความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริคเท่ากับ 0 - 3.5 M จะเห็นว่าสีที่เกิดขึ้นไม่มีความแตกต่างกันมากนัก แต่มีแนวโน้มที่จะมีสีม่วงมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของกรดมากขึ้น



รูปที่ 26 แสดงสเปกตรัมของสารละลายที่เกิดการเกาะตัวกันของอนุภาคนาโนของทองโดยมีน้ำนมที่อัตราส่วนการเจือจาง 1:200 เป็นตัวควบคุมในสารละลายที่มีความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริคเท่ากับ 0 - 3.5 M จะพบว่าที่ความเข้มข้นของกรดสูงกว่า 1 M นั้นค่าการดูดกลืนไม่ต่างกันมากนัก

การที่อนุภาคนาโนของทองเกิดการเกาะตัวกันนั้นอธิบายได้จากการที่แป้งนั้นละลายในน้ำได้น้อยอยู่แล้ว แต่เมื่ออยู่ในเบสนั้น เบสจะทำให้หมู่ฟังก์ชันบางตัวบนสายพอลิเมอร์ของแป้งมีประจุ ทำให้แป้งละลายได้บ้าง แต่เมื่ออยู่ในสถาวะที่เป็นกรด แป้งจะยิ่งละลายน้ำได้น้อยลง เมื่อละลายน้ำไม่ได้แป้งจึงสูญเสียความสามารถในการป้องกันการจับตัวกันของอนุภาคนาโนของทอง

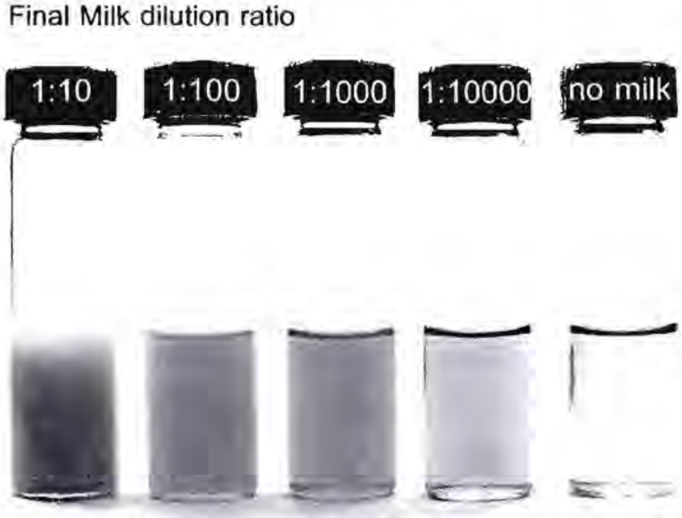
สำหรับการที่เกิดการเกาะตัวกันแล้วสีมีการเปลี่ยนแปลงนั้น Jutaek และคณะ ได้อธิบายไว้ว่าเมื่ออนุภาคนาโนของทองมาจับตัวกัน จะเกิด dipole coupling ระหว่างอนุภาค ให้สเปกตรัมการดูดกลืนและสีที่คล้ายกับของอนุภาคนาโนที่มีขนาดใหญ่และดูดกลืนคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความยาวคลื่นมากขึ้น ดังนั้นเมื่อเกิดการจับตัวมากขึ้น สีของสารละลายจึงออกม่วงมากขึ้น

จากผลการทดลองนี้แสดงว่าช่วง pH ที่เหมาะกับปฏิกิริยาคือช่วงที่มี กรดไฮโดรคลอริคความเข้มข้น 1.5-2.5 M เนื่องจากเป็นช่วงที่การเปลี่ยนแปลง pH เพียงเล็กน้อยจะไม่ส่งผลต่อสีที่ได้ โดยหากต้องการประหยัดค่าใช้จ่ายอาจเลือกใช้กรดไฮโดรคลอริคความเข้มข้น 1.5 M หรือหากต้องการให้สารละลายเป็นกรดอย่างแน่นอนก็สามารถเลือกใช้ที่ความเข้มข้น 2.5 M ได้

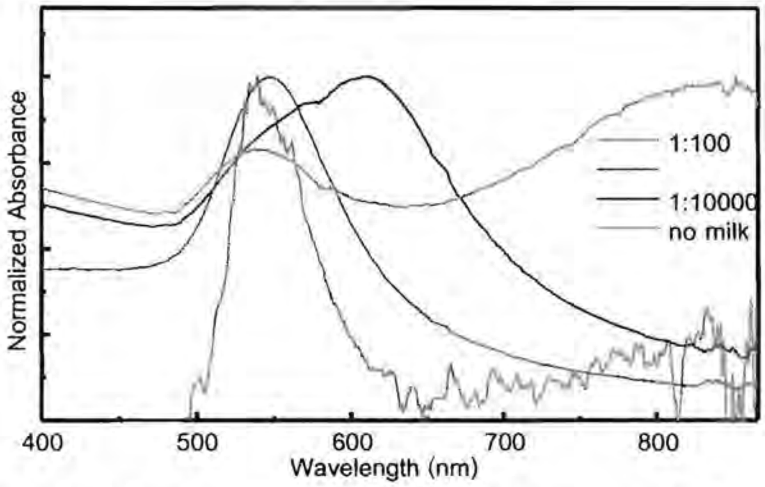
การนำเงื่อนไขที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในน้ำนม

เตรียมอนุภาคนาโนของทองขนาด 20 nm ที่มีแป้งเป็นสารช่วยเสถียรที่มีความเข้มข้น 200 pm ปริมาณ 1 mL ไว้ 5 ชุด ผสมกับน้ำนมที่ไม่เจือจาง, เจือจาง 10, 100, 1000 เท่าและน้ำกลั่นปริมาตร 1 mL จากนั้นผสมสารละลายทั้งห้าชุดเข้ากับกรดไฮโดรคลอริคความเข้มข้น 2.5 M ปริมาตร 8 mL สังเกตสีที่เปลี่ยนไปด้วยตาเปล่าและ UV-Vis สเปกโทรมิเตอร์

เมื่อเติมน้ำนมที่อัตราส่วนการเจือจางต่าง ๆ ผสมกับอนุภาคนาโนของทองก่อนที่จะเติมกรดลงไปพบว่า สีที่ปรากฏขึ้นนั้นแปรตามความเข้มข้นของน้ำนม โดยที่อัตราส่วนการเจือจางสุดท้ายของน้ำนมเป็น 1:10 นั้นจะให้สีแดง และให้สีส้มอมชมพู, บานเย็น, น้ำเงินและเทา ที่อัตราส่วนการเจือจาง 1:100, 1:1000, 1:10000 และไม่มีน้ำนมเลย ตามลำดับ



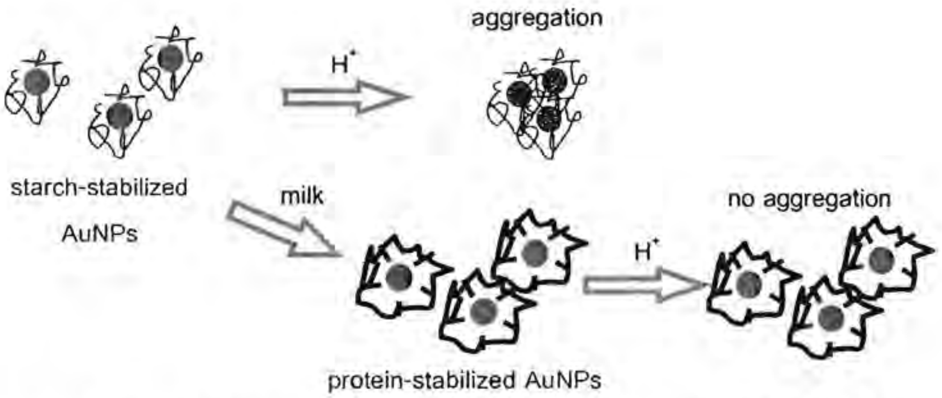
รูปที่ 27 แสดงสีของสารละลายที่เกิดจากการเกาะตัวกันของอนุภาคนาโนของทองโดยมีน้ำนมที่อัตราส่วนการเจือจางสุดท้ายเท่ากับ 1:10, 1:100, 1:1000, 1:10000 และไม่มีน้ำนมเป็นตัวควบคุม



รูปที่ 28 แสดง UV-Vis สเปกตรัมของสารละลายที่เกิดการเกาะตัวกันของอนุภาคนาโนของทอง โดยมีน้ำนมที่อัตราส่วนการเจือจางสุดท้ายเท่ากับ 1:100, 1:1000, 1:10000 และไม่มีน้ำนมเป็นตัวควบคุม

จาก UV-Vis สเปกตรัม จะเห็นว่า ความเข้มข้นที่ลดลงของนมทำให้ค่าการดูดกลืนสูงสุดย้ายไปที่ความยาวคลื่นมากขึ้น ซึ่งแสดงถึงการเกิดการจับตัวกันที่มากขึ้น นั่นคือน้ำนมมีความสามารถในการป้องกันการจับตัวกันของอนุภาคนาโนของทองเมื่อสัมผัสกับกรดได้

ความสามารถในการป้องกันการจับตัวกันนั้นสามารถอธิบายได้อย่างง่าย ๆ ด้วยสภาพการละลาย เนื่องจากในสารละลายนั้นมีสภาพเป็นกรดมาก (กรดไฮโดรคลอริคความเข้มข้น 2.5 M) แป้งซึ่งละลายในกรดได้ไม่ดีจึงไม่สามารถป้องกันการจับตัวกันของอนุภาคนาโนของทองได้ ในขณะที่ในสภาพกรดเช่นนั้นโปรตีนนั้นสามารถละลายน้ำได้เพราะมี pH ต่ำกว่า isoelectric point โปรตีนจึงยังคงมีความสามารถในการป้องกันการจับตัวกันของอนุภาคนาโนของทองได้ในสภาวะดังกล่าว



รูปที่ 29 แสดงแผนภาพการยับยั้งการเกาะตัวกันของอนุภาคนาโนของทองโดยโปรตีนในน้ำนม

เนื่องจากการที่ความอัตราส่วนการเจือจางของนมที่ไม่เท่ากันทำให้เกิดสีที่แตกต่างกันนี้ วิธีการนี้จึงสามารถนำมาวิเคราะห์หาอัตราส่วนการเจือจาง (ซึ่งบ่งชี้ปริมาณโปรตีน) ได้ โดยวิธีการนี้จะมีค่าใช้จ่ายรวมทั้งสิ้น 0.68 บาทต่อการวิเคราะห์หนึ่งตัวอย่าง

7.4 สรุป

คณะนักวิจัยประสบความสำเร็จในการพัฒนานวัตกรรมการสังเคราะห์อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองคำและใช้อนุภาคระดับนาโนของทองคำที่สังเคราะห์ได้ไปตรวจสอบน้ำนมวัวปลอมหรือน้ำนมด้อยคุณภาพ นวัตกรรมที่พัฒนาขึ้นมีศักยภาพในการพัฒนาต่อเนื่องเพื่อทำชุดทดสอบน้ำนมเพื่อเชิงพาณิชย์ได้ เนื่องจากมีค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ต่ำมาก น้อยกว่า 1 บาทต่อครั้ง และการวิเคราะห์ทำได้อย่างรวดเร็ว ไม่ต้องการอุปกรณ์เพิ่มเติม ผู้ใช้สามารถทำการวิเคราะห์เองได้

8. การดำเนินงานวิจัยตามที่เสนอไว้ในโครงการวิจัยเปรียบเทียบกับงานวิจัยที่ได้ดำเนินการ

ตารางเปรียบเทียบแผนการดำเนินงานตลอดแผนงานวิจัยกับงานวิจัยที่ได้ดำเนินการไปแล้ว

กิจกรรม	ปีงบประมาณ 2552			
	เดือน 1-3	เดือน 4-6	เดือน 7-9	เดือน 10-12
1. พัฒนากรรมวิธีการสังเคราะห์ tetrachloroauric acid (HAuCl4) เพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นสำหรับการผลิตอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองคำ	✓ ☑			
2. พัฒนานวัตกรรม Green Chemistry สำหรับการสังเคราะห์อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองคำที่เน้นการใช้ผลผลิตทางการเกษตรเป็นตัวรีดิวซ์สำหรับการสังเคราะห์อนุภาคนาโน	✓ ☑	✓ ☑		
3. พัฒนากรรมวิธีการสังเคราะห์อนุภาคโกล์ดนาโนปริมาณมากและมีความเสถียรสูง เพื่อใช้ในสร้างเป็นอุปกรณ์รับรู้เชิงแสง		✓ ☑		
4. ศึกษารูปร่าง ขนาด และวิเคราะห์สมบัติเชิงแสงของอนุภาคนาโนของทองคำที่สังเคราะห์ได้		✓ ☑	✓ ☑	
5. พัฒนาต้นแบบชุดตรวจสอบน้ำนมด้อยคุณภาพและน้ำนมปลอมโดยใช้สมบัติเชิงแสงของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองคำ			✓ ☑	✓ ☑
6. เขียนรายงานความก้าวหน้า และเสนอผลงานในที่ประชุมทางวิชาการ				✓ ☑

✓ แผนการดำเนินงาน

☑ ผลการดำเนินงาน

9. ข้อเสนอแนะ

โครงการวิจัยนี้เป็นโครงการวิจัยต่อเนื่องระยะยาว เนื่องจากเป็นโครงการวิจัยที่ผลิตวัสดุนาโนต้นน้ำที่การประยุกต์ที่หลากหลาย ทั้งการผลิตในภาคอุตสาหกรรมเพื่อการส่งออก อุตสาหกรรมเครื่องอุปโภคบริโภค และอุตสาหกรรมชุมชน คณะนักวิจัยจะพัฒนานวัตกรรมนาโนเพื่อนำไปใช้ในการตรวจสอบน้ำนมเ

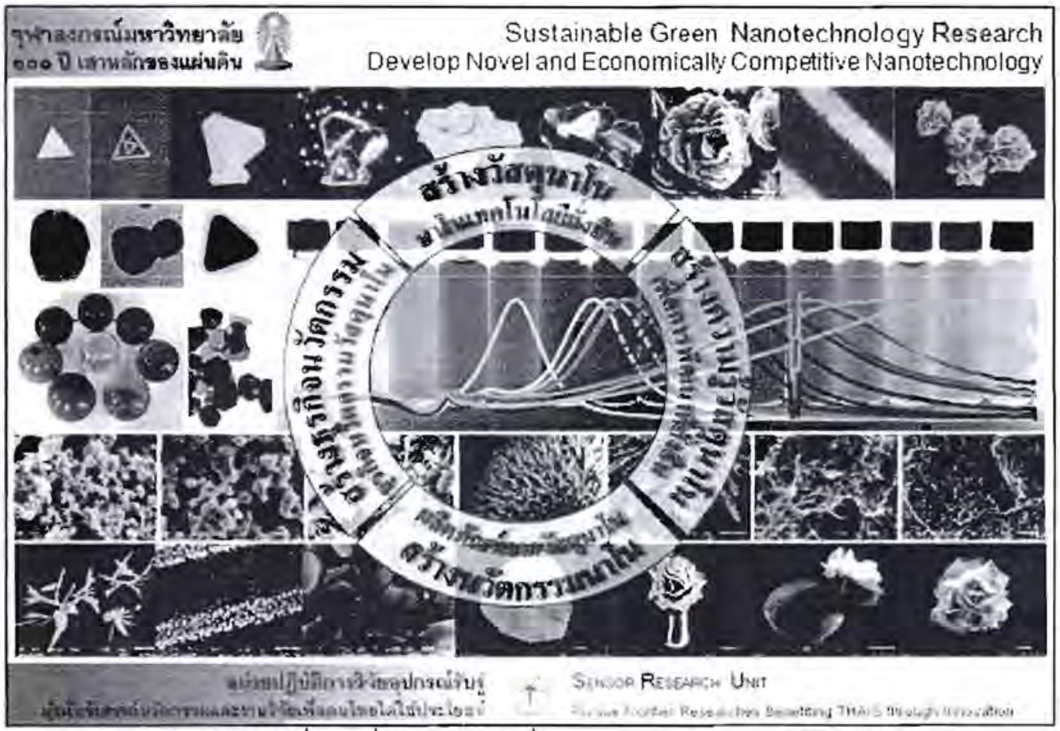
10. การเผยแพร่ และ การใช้ประโยชน์จากผลงานวิจัย

พัฒนาชุดทดสอบน้ำนมที่ผู้ใช้สามารถทำการทดสอบเองได้ และส่งนวัตกรรมชุดทดสอบดังกล่าวเพื่อประกวดชิงรางวัลผลงานประดิษฐ์คิดค้นต่อไป

11. แนวทางการวิจัยในอนาคตด้านวัสดุนาโนของหน่วยปฏิบัติการวิจัยอุปกรณ์รับรู้

จากความสำเร็จที่ผ่านมาของคณะนักวิจัยด้านวัสดุนาโน โดยเฉพาะการพัฒนานวัตกรรมการผลิตอนุภาคระดับนาโนเมตรของเงินเพื่อการประยุกต์เชิงพาณิชย์และการประยุกต์ในระดับอุตสาหกรรม ทำให้คณะนักวิจัยมีแนวคิดที่จะพัฒนานวัตกรรมต่อเนื่องด้านเทคโนโลยีวัสดุนาโน โดยเฉพาะการพัฒนา

กรรมวิธีการผลิตวัสดุนาโนของโลหะมีค่า (Precious Metals) 4 ชนิด ได้แก่ เงิน ทองคำ แพลตตินัม และพัลลาเดียม ด้วยกรรมวิธีที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม โดยใช้ตัวรีดิวซ์จากธรรมชาติ ที่หาได้ในประเทศ เพื่อลดการนำเข้าสารเคมีที่มีราคาแพงและเป็นพิษ โดยการวิจัยนี้จะอยู่ภายใต้งานวิจัยด้านนาโนเทคโนโลยียั่งยืนที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม (Sustainable Green Nanotechnology) การพัฒนานี้จะทำให้ต้นทุนการผลิตวัสดุนาโนของคณะนักวิจัยต่ำลงไปอีก ทำให้มีความได้เปรียบและมีศักยภาพสูงมากในการพัฒนาเพื่อเชิงพาณิชย์ นอกจากนั้นการผลิตปริมาณมากเพื่อเชิงพาณิชย์นี้จะไม่สร้างมลพิษและมีสารเคมีตกค้างสู่สิ่งแวดล้อม งานวิจัยด้านวัสดุนาโนของหน่วยปฏิบัติการวิจัยอุปกรณ์รับรู้ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ในอนาคตจะเป็น Green Nanotechnology ทั้งหมด



รูปที่ 30 งานวิจัยนาโนเทคโนโลยียั่งยืนที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมของโลหะมีค่า ทำให้ได้อนุภาคระดับนาโนเมตรที่มีสมบัติพิเศษ (Functional Nanomaterials) ตัวอย่างที่แสดงข้างต้นเป็นกระจกทองคำขนาดนาโนเมตรถึงไมโครเมตร อนุภาคระดับนาโนเมตรของโลหะมีค่ารูปทรงต่างๆ ที่มีสมบัติเชิงแสง สมบัติเชิงพื้นผิว ความเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่สามาถคบคุมได้ ซึ่งสังเคราะห์ได้ด้วยกระบวนการนาโนเทคโนโลยียั่งยืนที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ที่พัฒนาขึ้นโดยหน่วยปฏิบัติการวิจัยอุปกรณ์รับรู้

นอกจากนั้นคณะนักวิจัยได้เริ่มพัฒนากรรมวิธีการผลิตวัสดุนาโนที่มีสมบัติพิเศษ โดยเฉพาะสมบัติเชิงแสง โดยการควบคุมขนาด รูปร่าง และ องค์ประกอบของวัสดุนาโน โดยวัสดุนาโนที่พัฒนาต่อเนื่องนี้เป็น Advance Functional Nanomaterials ที่มีบทประยุกต์เพื่อนำไปใช้ทำเป็น Optical Sensor เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

และ นำไปใช้เป็นตัวเพิ่มสัญญาณในการวิเคราะห์ด้าน Surface Enhanced Techniques เช่น Infrared และ Raman Spectroscopy

ผลการวิจัยข้างต้น พิสูจน์ได้ว่าคณะนักวิจัยสามารถพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตอนุภาคระดับนาโนเมตรของเงินที่มีศักยภาพสูงในการพัฒนาต่อเนื่องเพื่อเชิงพาณิชย์ การพัฒนานี้จะส่งผลให้ภาคอุตสาหกรรมของไทยลดความเสี่ยงในการแข่งขันด้านราคากับสินค้าจากต่างประเทศ ร่วมไปถึงการเพิ่มศักยภาพในการแข่งขัน เนื่องจากสามารถผลิตวัตถุดิบขึ้นใช้ได้เอง โดยไม่ต้องนำเข้าทั้งเทคโนโลยีการผลิตและสารตั้งต้นจากต่างประเทศ

(ลายเซ็น) ....

(รองศาสตราจารย์ ดร. สนอง เอกสิทธิ์)

หัวหน้าโครงการวิจัย

20 สิงหาคม 2553

การประเมินรายงานความก้าวหน้าของโครงการวิจัย

<u>สรุปความเห็นของการประเมิน</u>

- [x] เห็นควรสนับสนุนให้ดำเนินการต่อไป
- [ ] ข้อเสนอแนะเพิ่มเติม

(ลายเซ็น) ....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เอกสิทธิ์ นิสารัตนพร)

ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

20 สิงหาคม 2553