การประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนเงินสำหรับวิเคราะห์วิตามินซีเชิงปริมาณ

APPLICATION OF SILVER NANOPARTICLES FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF VITAMIN C

รากแก้ว ผลอุดม
นฤตปรียา ประเสริฐสังข์
สุวนันท์ ราชนิยม

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2558

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนเงินสำหรับวิเคราะห์วิตามินซีเชิงปริมาณ

APPLICATION OF SILVER NANOPARTICLES FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF VITAMIN C

T149302

รากแก้ว ผลอุดม
นฤตปรียา ประเสริฐสังข์
สุวนันท์ ราชนิยม

เลขหมู่ .....
เลขทะเบียน 149302
วัน. เดือน. ปี 12 ก.ค. 2561

b 12552781
l .....

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2558

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

APPLICATION OF SILVER NANOPARTICLES FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF VITAMIN C

RAGKAEW PHOLUDOM
NARITPRIYA PRASOETSANG
SUWANAN RACHANIYOM

A SPEACIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (INDUSTRIAL CHEMISTRY)
DEPARTMENT OF CHEMISTRY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2015

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนเงินสำหรับวิเคราะห์วิตามินซีเชิงปริมาณ Application of Silver Nanoparticles for Quantitative Determination of Vitamin C		
ชื่อนักศึกษา	นางสาวรากแก้ว	ผลอุดม	รหัสนักศึกษา 55050783
	นางสาวนฤตปรียา	ประเสริฐสังข์	รหัสนักศึกษา 55050807
	นางสาวสุวนันท์	ราชนิยม	รหัสนักศึกษา 55050849
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)		
ภาควิชา	เคมี		
ปีการศึกษา	2558		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ		

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2558

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชั้น ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร.เสาวภาคย์ ธีราทรง กรรมการ	
ผศ.ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนเงินสำหรับวิเคราะห์วิตามินซีเชิงปริมาณ		
ชื่อนักศึกษา	นางสาวรากแก้ว	ผลอุดม	รหัสนักศึกษา 55050783
	นางสาวนฤตปรียา	ประเสริฐสังข์	รหัสนักศึกษา 55050807
	นางสาวสุวนันท์	ราชนิยม	รหัสนักศึกษา 55050849
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)		
ภาควิชา	เคมี		
คณะ	วิทยาศาสตร์		
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)		
ปีการศึกษา	2558		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ		

บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้ทำการศึกษาการใช้อนุภาคนาโนเงิน เพื่อวิเคราะห์วิตามินซีเชิงปริมาณด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี อนุภาคนาโนเงินสังเคราะห์ด้วยวิธีการปลูกเมล็ด (seed-mediated growth method) ซึ่งกรดแอสคอร์บิกทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์ ทำการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินโดยใช้กรดแอสคอร์บิกความเข้มข้นต่างๆ คือ 50, 100, 150 และ 200 มิลลิโมลต่อลิตร และทำการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 590 นาโนเมตร ได้กราฟมาตรฐานมีความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้นระหว่าง 50 ถึง 200 มิลลิโมลต่อลิตร สมการแสดงแนวโน้มความเป็นเส้นตรงคือ $y = -0.0012x + 0.9805$, $R^2 = 0.9805$

คำสำคัญ : กรดแอสคอร์บิก การวิเคราะห์เชิงปริมาณ สเปกโทรโฟโตเมทรี อนุภาคนาโนเงิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Application of Silver Nanoparticles for Quantitative Determination of Vitamin C		
Students	Miss Ragkaew	Pholudom	Student ID 55050783
	Miss Naritpriya	Prasoetsang	Student ID 55050807
	Miss Suwanan	Rachaniyom	Student ID 55050849
Degree	Bachelor of Science (Industrial Chemistry)		
Department	Chemistry		
Faculty	Science		
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)		
Academic Year	2015		
Advisor	Asst.Prof.Dr.Wiboon Praditweangkum		

Abstract

This special project aims to study the application of silver nanoparticles for quantitative determination of Vitamin C by spectrophotometry. The silver nanoparticles have been synthesized by seed-mediated growth method with ascorbic acid as reducing agent. The silver nanoparticles can be produced by varying ascorbic acid concentration of 50, 100, 150 and 200 millimol/L and absorbance is measured at 590 nm. The calibration graph is linear in concentration range form 50 to 200 millimol/L. The linear equation is $y = -0.0012x + 0.9805$, $R^2 = 0.9805$.

Keywords : Ascorbic acid,Quantitative analysis,Spectrophotometry,Silver nanoparticles

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษ เรื่องการประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนเงินสำหรับวิเคราะห์วิตามินซีเชิงปริมาณจะสำเร็จลุล่วงไม่ได้หากขาดผู้สนับสนุนในการดำเนินโครงงาน

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ที่ให้คำปรึกษา แนะนำเกี่ยวกับความรู้ อบรมให้ทำงานอย่างมีระเบียบแบบแผน พร้อมทั้งให้ความช่วยเหลือและตรวจทานโครงงานพิเศษนี้ ทำให้การจัดทำโครงงานพิเศษเล่มนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชั้น และ ผศ.ดร.เสาวภาคย์ ธีราทรง ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการตรวจสอบและเสนอแนะความคิดเห็นเพื่อแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ในโครงงานพิเศษ

ขอขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือ อุปกรณ์ต่างๆ เพื่อการวิเคราะห์จนโครงงานพิเศษนี้สมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ บิดา มารดา และเพื่อนนักศึกษาที่ให้คำแนะนำเป็นกำลังใจ และช่วยเหลือให้คำปรึกษาในการดำเนินโครงงานพิเศษนี้

ขอขอบพระคุณ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังที่ให้การศึกษาตลอดระยะเวลา 4 ปี และให้ทุนสนับสนุนการนำเสนอผลงานจนสำเร็จการศึกษา

สุดท้ายนี้ประโยชน์และความรู้อันพึงมีจากโครงงานพิเศษฉบับนี้ขอมอบแด่บิดา มารดา ครอบครัว ผู้มีพระคุณ และคณาจารย์ทุกท่าน หากมีข้อผิดพลาดประการใด ผู้ศึกษาขอน้อมรับและขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วย

รากแก้ว ผลอุดม
นฤตปรียา ประเสริฐสังข์
สุวนันท์ ราชนิยม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ก

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... ข

กิตติกรรมประกาศ..... ค

สารบัญ..... ง

สารบัญตาราง..... ช

สารบัญรูป..... ซ

บทที่ 1 บทนำ..... 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย..... 1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย..... 2

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย..... 2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 2

1.5 ขั้นตอนของการวิจัยและวิธีการดำเนินงาน..... 3

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 4

2.1 วิตามินซี (Ascorbic acid)..... 4

2.1.1 ประวัติการค้นพบวิตามินซี..... 4

2.1.2 คุณสมบัติทั่วไป..... 4

2.1.3 คุณสมบัติทางเคมี..... 5

2.1.4 ประโยชน์ของวิตามินซี..... 6

2.2 อนุภาคนาโนเงิน (ซิลเวอร์นาโน)..... 8

2.2.1 สังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินโดยใช้วิธีรีดักชันทางเคมี..... 8

2.2.2 surface plasmon resonance..... 8

2.2.3 ลักษณะสมบัติเฉพาะนาโนซิลเวอร์..... 9

2.2.4 ประโยชน์ของนาโนซิลเวอร์..... 11

2.3 วิธีการหาปริมาณวิตามินซี..... 13

2.3.1 การหาปริมาณวิตามินซีโดยการไทเทรตแบบรีดอกซ์..... 13

2.3.2 การหาปริมาณกรดแอสคอร์บิกในเม็ดวิตามินซีโดยวิธีโพเทนชิโอเมตริกรีดอกซ์ไทเทรชัน..... 14

2.3.3 การหาปริมาณวิตามินซีโดยวิธีคูลอมเมตริกไทเทรชัน..... 16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.4 ยูวี วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV Vis spectrophotometer)..... 17
2.4.1 กฎของแสง..... 18
2.4.2 การวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Quantitative analysis)..... 19
2.4.3 ส่วนประกอบของเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์..... 21
2.4.4 รูปแบบของเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์..... 24
2.4.5 วิธีใช้เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์..... 26
2.4.6 การเบี่ยงเบนจากเครื่องมือ..... 26
2.5 กราฟความเข้มข้นมาตรฐาน..... 29
2.5.1 วิธีหาปริมาณสาร โดยการทำ calibration curve..... 30
2.6 ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง..... 30
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 32
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย..... 34
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์..... 34
3.1.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ..... 34
3.1.2 สารเคมี..... 34
3.2 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย..... 34
3.3 วิธีดำเนินการทดลอง..... 35
3.3.1 ศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน..... 35
3.3.1.1 การสังเคราะห์ซิลเวอร์ซีด (Ag-seed)..... 35
3.3.1.2 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน (Silver nano)..... 35
3.3.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานวิตามินซี..... 35
3.3.3 ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซี. 36
3.3.3.1 ศึกษาลักษณะการเกิดปฏิกิริยากับอนุภาคนาโนเงิน..... 36
3.3.3.2 ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาของวิตามินซี..... 37
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล..... 38
4.1 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน..... 38
4.1.1 การสังเคราะห์ซิลเวอร์ซีด (Ag seed)..... 38
4.1.2 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน..... 38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.2. ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซี..... 39

4.2.1 ศึกษาลักษณะการเกิดปฏิกิริยากับอนุภาคนาโนเงิน..... 39

4.2.2 ศึกษาเวลาที่เหมาะสมของวิตามินซี..... 40

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ..... 50

5.1 สรุปผลการวิจัย..... 50

5.2 ข้อเสนอแนะ..... 50

เอกสารอ้างอิง..... 51

ภาคผนวก..... 54

ภาคผนวก ก คู่มือการใช้งานเบื้องต้น โปรแกรม UVprobe Ver. 2.42 สำหรับเครื่อง UV-Visible spectroscopy รุ่น UV-1800..... 55

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	เปรียบเทียบปริมาณของแสงรบกวนกับค่าการดูดกลืนแสงต่างๆ.....	29
4.1	แสดงสีของสารละลายอนุภาคนาโนเงินที่ทำการสังเคราะห์โดยใช้สารละลายมาตรฐานวิตามินซีที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	39
4.2	แสดงสีของละลายเมื่อตั้งทิ้งไว้ที่เวลา 0, 10, 30, 60, 120, 300, 600.....	41
4.3	สีของสารละลายอนุภาคนาโนเงิน เมื่อตั้งทิ้งไว้ 10 นาที.....	42
4.4	สีของสารละลายอนุภาคนาโนเงิน เมื่อตั้งทิ้งไว้ 20 นาที.....	43
4.5	สีของสารละลายอนุภาคนาโนเงิน เมื่อตั้งทิ้งไว้ 40 นาที.....	44
4.6	สีของสารละลายอนุภาคนาโนเงิน เมื่อตั้งทิ้งไว้ 60 นาที.....	45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	โครงสร้างวิตามินซี	5
2.2	ลักษณะโครงสร้างของผลึกของอนุภาคนาโนซิลเวอร์	10
2.3	ปฏิกิริยาระหว่างกรดแอสคอร์บิกกับสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต.	15
2.4	การทำโพเทนชิโอเมตริกรีดอกซ์ไทเทรชัน	15
2.5	ขั้วเจนเนอเรเตอร์	16
2.6	ขั้วไฟฟ้าช่วย	17
2.7	ไทเทรชันเซลล์	17
2.8	แสงที่อาจเกิดขึ้นเมื่อแสงตกกระทบสารตัวอย่าง	18
2.9	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับค่าการดูดกลืนแสง (ก,ง) และค่าแสงส่องผ่าน (ข,ค)	20
2.10	ส่วนประกอบของเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์	21
2.11	หลอดดิวเทอเรียม (ซ้าย) และหลอดทังสเตน (ขวา)	22
2.12	เกรตติ้งใช้แยกความยาวคลื่นที่ต้องการ	22
2.13	ตัวอย่าง cuvettes แบบต่างๆ	23
2.14	ภาพตัดขวางของหลอดPMT (ซ้าย) ลักษณะหลอดPMT (ขวา) ในสเปกโทรโฟโตมิเตอร์	23
2.15	สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่มีไดโอดอาร์เรย์เป็นตัวตรวจจับสัญญาณ	24
2.16	สเปกโทรโฟโตมิเตอร์แบบลำแสงเดี่ยว	25
2.17	สเปกโทรโฟโตมิเตอร์แบบลำแสงคู่	25
2.18	สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่มีไดโอดอาร์เรย์เป็นตัวตรวจจับสัญญาณ	26
2.19	เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นที่คลาดเคลื่อน อันเนื่องมาจากความคลาดเคลื่อนในการอ่านค่าการดูดกลืนของเครื่องมือ	27
2.20	ผลของแสงที่มีหลายความยาวคลื่นต่อการเบี่ยงเบนจากกฎของเบียร์	28
2.21	อิทธิพลของคลื่นแสงรบกวน (stray light)	28
2.22	แสดงการวัดค่าการดูดกลืนแสงเพื่อนำมาสร้างกราฟความเข้มข้นมาตรฐาน	29
2.23	กราฟมาตรฐาน	30
2.24	สมการและกราฟมาตรฐาน	31
4.1	ซิลเวอร์ซีด	38
4.2	อนุภาคนาโนเงิน	38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.3	สเปกตรัมการดูดกลืนแสงช่วงความยาวคลื่นช่วง 400-1000 นาโนเมตรของอนุภาค นาโนเงินที่สังเคราะห์ด้วยสารละลายวิตามินซีความเข้มข้นต่างๆ.....	40
4.4	สเปกตรัมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความยาวคลื่นของกรดแอสคอร์บิกมาตรฐานที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน เมื่อตั้งไว้ที่เวลา 10 นาทีก่อนนำไปตรวจวัด.....	46
4.5	สเปกตรัมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความยาวคลื่นของกรดแอสคอร์บิกมาตรฐานที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน เมื่อตั้งไว้ที่เวลา 20 นาทีก่อนนำไปตรวจวัด.....	46
4.6	สเปกตรัมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความยาวคลื่นของกรดแอสคอร์บิกมาตรฐานที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน เมื่อตั้งไว้ที่เวลา 40 นาทีก่อนนำไปตรวจวัด.....	47
4.7	สเปกตรัมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความยาวคลื่นของกรดแอสคอร์บิกมาตรฐานที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน เมื่อตั้งไว้ที่เวลา 60 นาทีก่อนนำไปตรวจวัด.....	47
4.8	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 590 นาโนเมตรและความเข้มข้นของแอสคอร์บิกที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน เมื่อตั้งทิ้งไว้ 10 นาที.....	48
4.9	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 590 นาโนเมตรและความเข้มข้นของแอสคอร์บิกที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน เมื่อตั้งทิ้งไว้ 20 นาที.....	48
4.10	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 590 นาโนเมตรและความเข้มข้นของแอสคอร์บิกที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน เมื่อตั้งทิ้งไว้ 40 นาที.....	49
4.11	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 590 นาโนเมตรและความเข้มข้นของแอสคอร์บิกที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน เมื่อตั้งทิ้งไว้ 60 นาที.....	49
ก.1	โปรแกรม UVprobe Ver. 2.42.....	52
ก.2	โปรแกรมทำการตรวจสอบความพร้อมของเครื่อง.....	52
ก.3	หน้าต่างแสดงการวิเคราะห์ spectrum.....	53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
ก.4	หน้าต่างการกำหนดค่าต่างๆที่ต้องการวิเคราะห์	53
ก.5	แสดง spectrum ที่ทำการวิเคราะห์ได้	54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

วิตามินซีหรือกรดแอสคอร์บิกเป็นวิตามินที่สามารถละลายในน้ำได้ดี เป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง เป็นส่วนในการเสริมสร้างคอลลาเจน ช่วยเสริมสร้างเนื้อเยื่อต่างๆในร่างกาย เสริมสร้างภูมิคุ้มกัน และยังช่วยให้ร่างกายดูดซึมธาตุเหล็กได้ดียิ่งขึ้น แต่มนุษย์เรานั้นไม่สามารถสังเคราะห์วิตามินซีขึ้นเองได้ จึงจำเป็นต้องได้จากการรับประทานเข้าไป ซึ่งวิตามินซีในอาหารมี 2 รูปแบบ ร่างกายสามารถนำไปใช้ได้ทั้ง 2 ชนิด คือ Ascorbic acid และ Dehydroascorbic acid ซึ่ง Ascorbic acid มีลักษณะโมเลกุลคลายกับน้ำตาล กลูโคส มี ผลึกสีขาว มีรสเปรี้ยว วิตามินซีเมื่อถูกออกซิไดซ์จะกลายเป็น Dehydroascorbic acid ซึ่งเป็นโมเลกุลที่มีความไวในการทำปฏิกิริยาทางเคมีในร่างกายวิตามินซีร่วมในปฏิกิริยา Oxidation reduction และปฏิกิริยาในการขนส่งอนุมูล Hydrogen ด้วยเหตุนี้วิตามินซีจึงเป็นโมเลกุลที่มีความไวในการทำปฏิกิริยาเป็น Reduction Agent หรือ Antioxidant ที่มีความสำคัญโดยเฉพาะอย่างยิ่งในปฏิกิริยาการเผาผลาญไขมันและสามารถป้องกันไม่ให้เกิด Oxidation ของ Tetrahydrofolate วิตามินซีสลายตัวได้เร็ว ไวต่อออกซิเจนมาก มีความไวต่อปฏิกิริยา Oxidation นอกจากนี้ยังสามารถสลายตัวได้ง่ายในบรรยากาศที่มีความร้อน แสง ความชื้น โลหะหนัก เช่น เมื่อตั้งทิ้งไว้ในบรรยากาศที่มีทองแดง และในสิ่งแวดล้อมที่มีสภาพเป็นด่าง คุณสมบัติและปัจจัยต่าง ๆ เหล่านี้เป็นตัวทำให้วิตามินซีในพืชผักและผลไม้สลายตัวได้ง่ายโดยเฉพาะพืชผักและผลไม้ที่เด็ดจากต้นมาเป็นเวลานานๆ หรือนำมาผ่านกระบวนการหุงต้ม

อย่างที่เห็นว่าวิตามินซีนั้นมีประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์มาก แต่ร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ได้ จึงต้องอาศัยจากสารอาหารภายนอกเช่น ผัก ผลไม้ต่างๆ หรืออีกทางเลือกหนึ่งของคนยุคปัจจุบันเพื่อชดเชยการสูญเสียวิตามินซี จึงทำการสังเคราะห์วิตามินซีเป็นอาหารเสริม เป็นวิธีที่สะดวกและรวดเร็ว อาหารเสริมประเภทวิตามินซีมีมากมายหลายรูปแบบได้แก่ แบบเม็ด แคปซูล ลูกอม เม็ดแบบแตกตัวช้า แบบผง แบบเคี้ยว และอื่นๆ ความแตกต่างระหว่างวิตามินซีจากธรรมชาติ หรือแบบอินทรีย์ และกรดแอสคอร์บิกสังเคราะห์โดยทั่วไป คือความยากง่ายในการย่อยและการดูดซึม ซึ่งต่างกันไปตามความสามารถของแต่ละคน วิตามินซีในรูปแบบเม็ดหรือแคปซูลส่วนมากจะมีขนาดตั้งแต่ 100 - 1,000 mg ส่วนในรูปแบบผงละลายน้ำจะมีขนาดประมาณ 5,000 mg ต่อช้อนชา

ดังนั้นจึงต้องมีการทดสอบหาปริมาณของวิตามินซี เพื่อให้ทราบปริมาณที่แน่นอนว่า ตรงกับบรรจุภัณฑ์ที่ระบุหรือไม่ และควบคุมตรงตามมาตรฐานที่กำหนดไว้ มีวิธีการทดสอบทั่วไปที่ใช้คือ การไทเทรต ซึ่งเป็นวิธีที่ต้องอาศัยผู้วิเคราะห์ที่มีความชำนาญสูง ใช้สารเคมีในปริมาณมาก งานวิจัยนี้จึงสนใจพัฒนา และประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนเงิน สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีในอาหารเสริม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องจากวิธีการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินนั้น ใช้วิตามินซีเป็นตัวรีดิวซ์ และอาศัยช่วงการดูดกลืนแสงของอนุภาคนาโนเงิน จึงสามารถนำไปประยุกต์ในการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีได้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

การประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนเงินเพื่อหาวิตามินซีเชิงปริมาณ

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาหลักการสำหรับการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินเพื่อประยุกต์ใช้ในการหาปริมาณวิตามินซีในอาหารเสริม โดยเริ่มจากการศึกษาวิธีการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน ที่ใช้แอสคอร์บิกเป็นตัวรีดิวซ์ และทำการทดลองหาเวลาที่เหมาะสมสำหรับการนำไปตรวจวิเคราะห์ โดยทำการวัดค่าการดูดกลืนแสง และสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อดูแนวโน้มความเป็นเส้นตรงของกราฟ เพื่อเลือกเวลาที่เหมาะสมที่สุดของการทำการวิเคราะห์หาวิตามินซีเชิงปริมาณ

ขั้นตอนการดำเนินงานมีดังต่อไปนี้

1) สืบค้นข้อมูลที่เกี่ยวข้อง

2) ศึกษาหลักการ ความเป็นไปได้และสภาวะที่เหมาะสมของการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน

3) นำอนุภาคนาโนเงินมาประยุกต์เพื่อการตรวจวิเคราะห์วิตามินซีเชิงปริมาณ โดยการสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อดูแนวโน้มความเป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐาน

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

พบวิธีการวิเคราะห์วิตามินซีเชิงปริมาณ โดยการประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนเงินในการตรวจวัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.5 ขั้นตอนการดำเนินการวิจัยและวิธีดำเนินงาน

แผนการดำเนินการวิจัย										
กิจกรรม/ขั้นตอน	ปี2558					ปี2559				
	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.
1.ศึกษาข้อมูลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง										
2.ออกแบบการทดลอง										
3.ทดลองสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน										
4.จัดทำรูปเล่มบทที่1-3										
5.สังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินเพื่อประยุกต์ใช้ในการหาวิตามินซี										
6.วิเคราะห์และสรุปผลการทดลอง										
7.จัดทำรูปเล่มโครงงานพิเศษ										

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 วิตามินซี (Ascorbic acid)

2.1.1 ประวัติการค้นพบวิตามินซี [1]

การค้นพบโดยบังเอิญเกิดตั้งแต่สมัยสงครามครูเสด เมื่อโรคลักปิดลักเปิด (Scurvy) กลายเป็นสาเหตุสำคัญของการตายและทุพพลภาพของคนในสมัยนั้น ทำให้มีการศึกษาและค้นคว้าวิจัยทางการแพทย์ซึ่งภายหลังได้สรุปว่าสาเหตุมาจากการขาดวิตามินซีซึ่งมีในผักและผลไม้ ค.ศ.1744 ดร.เจมส์ลินด์ (Dr.James Lind) ได้ทดลองรักษาลูกเรือ 6 ใน 12 คน เป็นโรคลักปิดลักเปิด พบว่าส้ม และมะนาว รักษาโรคนี้ได้ ค.ศ. 1932 ดร.คิงส์ (Dr.King) สามารถแยกสารชนิดหนึ่งจากน้ำมะนาวซึ่งสามารถป้องกันและรักษาโรคลักปิดลักเปิด จึงได้ตั้งชื่อสารนี้ว่า กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) ซึ่งเป็นคำย่อมาจาก แอนตี้คอร์บิวติกแฟคเตอร์ (Antiscorbutic Factor)

ค.ศ.1933 เฮเวิร์ดและเฮิร์สต์ ได้ค้นพบโครงสร้างของวิตามินซี และทั้งคู่ทำการสังเคราะห์วิตามินซีได้สำเร็จในปีเดียวกัน ต้น ค.ศ. 1970 ทีมนักวิทยาศาสตร์ทางชีวเคมีนำโดย ดร.ไลนัส พอลิง (Linus Pauling) นักวิทยาศาสตร์ผู้ได้รับรางวัลโนเบลถึง 2 ครั้ง และเป็นผู้ที่มีอายุยืนยาวถึง 93 ปี ได้ตีพิมพ์ผลการค้นคว้าเรื่อง “วิตามินซีกับอาการหวัด” (Vitamin C and the Common Cold) ซึ่ง ดร.ไลนัส พอลิง ยังประกาศว่า “ผมจำต้องยอมรับว่าการมีสุขภาพดีของผมเกิดจากวิตามินและเกลือแร่ที่กินเข้าไป” เขาเชื่อว่าวิตามินซีช่วยชะลอการลุกลามของมะเร็งในตัวเขาได้นาน ถึง 20 ปี และหลังจากกินวิตามินซีในปริมาณสูงทุกวันตั้งแต่ปีค.ศ.1965 เขาก็ไม่เป็นหวัดอีกเลย

ค.ศ.1990 สถาบันมะเร็งแห่งชาติอเมริกา ได้ประกาศว่า “วิตามินซีมีฤทธิ์ต่อระบวนการทางชีวภาพอย่างซับซ้อนและหลายรูปแบบ บางทีอาจเป็นที่สุดของบรรดาวิตามินและสารอาหารทุกชนิด”

2.1.2 คุณสมบัติทั่วไป [1]

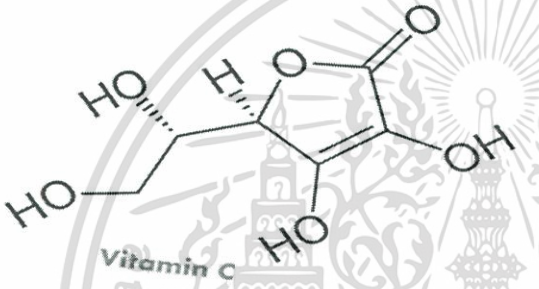
วิตามินซีหรือชื่อทางเคมีกรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) เป็นวิตามินที่ละลายได้ในน้ำ และร่างกายไม่สามารถที่จะสร้างวิตามินซีได้ จึงจำเป็นต้องได้จากการรับประทานเข้าไป วิตามินซีสามารถพบได้ในผักและผลไม้บางชนิด ผักและผลไม้ที่มีวิตามินซีสูงได้แก่ ส้ม แตงโม มะละกอ องุ่น แคนตาลูป สตรอเบอร์รี่ มะม่วง ลูกกีวี มะเขือเทศ บรอคเคอลี่ ถั่วงอก วิตามินซีในอาหารมี 2 รูปแบบ ซึ่งร่างกายสามารถนำไปใช้ได้ทั้ง 2 ชนิด คือ Ascorbic acid และ Dehydroascorbic acid ซึ่ง Ascorbic acid มีลักษณะโมเลกุลคล้ายกับน้ำตาลกลูโคส มี ผลึกสีขาว มีรสเปรี้ยว วิตามินซีเมื่อถูกออกซิไดซ์จะกลายเป็น Dehydroascorbic acid ซึ่งเป็นโมเลกุลที่มีความไวในการทำปฏิกิริยาทางเคมีในร่างกาย วิตามินซีร่วมในปฏิกิริยาคือ Oxidation reduction และปฏิกิริยาในการขนส่งอนุมูล Hydrogen ด้วยเหตุนี้วิตามินซีจึงเป็นโมเลกุลที่มีความไวในการทำปฏิกิริยา Reduction Agent หรือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Antioxidant ที่มีความสำคัญโดยเฉพาะอย่างยิ่งในปฏิกิริยาการเผาผลาญไขมันและสามารถป้องกันไม่ให้เกิด Oxidation ของ Tetrahydrofolate ซึ่งเป็นโฟเลทโคเอนไซม์ ทำให้มีการดูดซึมเหล็กในรูปแบบที่เป็น non-heme ในลำไส้ให้มากขึ้น

วิตามินซีสลายตัวได้เร็วที่สุดในจำพวกวิตามินด้วยกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งไวต่อออกซิเจนมาก (มีความไวต่อปฏิกิริยา Oxidation) นอกจากนี้ยังสามารถสลายตัวได้ง่ายในบรรยากาศที่มีความร้อน แสง ความชื้น โลหะหนัก (เช่น เมื่อตั้งทิ้งไว้ในบรรยากาศที่มีทองแดง) และในสิ่งแวดล้อมที่มีสภาพเป็นด่าง คุณสมบัติและปัจจัยต่างๆเหล่านี้เป็นตัวทำให้วิตามินซีในพืชผักและผลไม้สลายตัวได้ง่าย โดยเฉพาะพืชผักและผลไม้ที่เด็ดจากต้นเป็นเวลานานๆ หรือนำมาผ่านกระบวนการหุงต้ม ปัจจุบันมีผู้พยายามสังเคราะห์วิตามินซีเป็นอาหารเสริมเพื่อชดเชยการสูญเสียวิตามินตามธรรมชาติดังกล่าว

2.1.3 คุณสมบัติทางเคมี [2]



-สูตรโมเลกุล C_6H_8O

-น้ำหนักโมเลกุล 176.1

-จุดหลอมเหลว 192 องศาเซลเซียส

-สถานะ ผลึกสีขาว ไม่มีกลิ่น

รูปที่ 2.1 โครงสร้างวิตามินซี [2]

วิตามินซีหรือกรดแอสคอร์บิกจัดเป็นสารประกอบประเภทคาร์โบไฮเดรตชนิดหนึ่ง เนื่องจากเป็นอนุพันธ์ของน้ำตาลกลูโคส และวิตามินซีที่อยู่ในรูปแอล-ไอโซเมอร์ (L-isomer) เท่านั้นที่ออกฤทธิ์ในร่างกาย

เมื่อสัมผัสน้ำจะเปลี่ยนเป็นสีดำวิตามินซีมีสมบัติทนต่อกรด แต่ถูกออกซิไดซ์ได้ง่ายเมื่ออยู่ในภาวะที่เป็นด่าง ถูกแสง ความร้อน และเมื่อมีโลหะบางชนิด เช่น ทองแดง และเหล็ก จะทำให้เปลี่ยนแปลงโครงสร้างได้ง่าย การที่วิตามินซีมีสมบัติทนต่อกรด จึงมีความคงตัวในสารละลายทั้งกรดอินทรีย์และอนินทรีย์ เช่น กรดเมแทฟอสฟอริก ที่มีกรดเอทิลีนไดเอมีนเทเทระแอซีติก (ethylenediamine tetra-acetic acid, EDTA) ประมาณ 0.5-2.0 เปอร์เซ็นต์ กรดออกซาลิก กรดไตรคลอโรแอซีติกเจือจาง หรือกรดเพอร์คลอริกเจือจาง ที่มีรีดิวซิงเอเจนต์ เช่น 2,3-ไดเมอแคพโตโพรพานอล (2,3-dimercaptopropanol)

วิตามินซีละลายได้ดีในน้ำ (อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ได้ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์) และแอลกอฮอล์ ไม่ละลายในตัวทำละลาย เช่น ไขมัน โคโลฟอร์ม อีเทอร์ ปิโตรเลียมอีเทอร์ และเบนซีน เป็นต้น วิตามินซีสามารถทำปฏิกิริยากับโลหะได้หลายชนิดกลายเป็นเกลือของวิตามินซี

การสกัดวิตามินซีควรกระทำในสภาวะที่มีแสงน้อยและอยู่ในบรรยากาศก๊าซเฉื่อยเพื่อป้องกันการสลายตัว วิตามินซีในเลือดจะคงตัวเมื่อเก็บรักษาเลือดไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า -20 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.4 ประโยชน์ของวิตามินซี [3]

1) เสริมสร้างภูมิคุ้มกันและลดภูมิแพ้ เมื่อร่างกายได้รับหรือสัมผัสกับเกสรดอกไม้ ฝุ่นละออง โปรตีนแปลกปลอมในอาหาร ฯลฯ ซึ่งมีผลให้เกิดอาการแพ้มีไข้ลมพิษ ผื่นคัน หายใจหอบ วิตามินซีเป็นส่วนสำคัญในการกระตุ้นกระบวนการทางเคมีโดยยับยั้งสารที่เรียกว่า ฮิสตามีน ซึ่งเป็นสารที่ร่างกายสร้างขึ้นมามากเกินไปทำให้เลือดซึมผ่านผนังเส้นเลือดฝอยมากเกิดผิวหนังบวมแดง มีอาการระคายเคืองตามระบบหายใจ ทำให้จาม และมีน้ำมูกไหล นอกจากนั้นวิตามินซียังมีความสำคัญต่อระบบภูมิคุ้มกันโดยช่วยยังยั้งและต้านทานโรคติดเชื้อจากแบคทีเรียและไวรัส ช่วยรักษาผิวของเม็ดเลือดขาวไม่ให้ถูกทำลาย ทำให้การเคลื่อนย้ายตัวของเม็ดเลือดขาวไปยังเชื้อโรคต่างๆ เป็นไปได้อย่างรวดเร็วขึ้น อีกทั้งยังช่วยกระตุ้นการทำงานของน้ำย่อยขณะทำลายเชื้อโรคเหล่านั้น ลดอัตราการเกิดอาการของโรคเก๊าท์ (Gout) และข้ออักเสบ (Arthritis) อีกด้วย

2) เป็นสารต้านการออกซิไดซ์ (Antioxidant) วิตามินซีป้องกันการเกิดปฏิกิริยาการออกซิเดชันได้ดีจึงสามารถป้องกันการเสื่อมของเซลล์ และพบว่ามีผลในการต่อต้านการเกิดเซลล์ที่ผิดปกติต่างๆ เช่น เซลล์มะเร็ง โดยจะทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ และ Hydroxyl ป้องกันไม่ให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ซึ่งมาจากการสลายตัวของกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว (Polyunsaturated Fatty Acid) วิตามินซีอาจจะทำปฏิกิริยาโดยทางอ้อมในการป้องกันการสลายตัวของไขมันในเยื่อบุเซลล์ โดยช่วยในการสังเคราะห์วิตามินอีที่ติดกับผนังเซลล์ขึ้นมาใหม่ เป็นการป้องกันโรคมะเร็ง นอกจากนี้ยังมีข้อแนะนำว่าการได้รับวิตามินซีวันละ 200 มิลลิกรัม อาจลดการ เกิดไนโตรซามีน (Nitrosamine) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งในกระเพาะและตับ มักพบในการบริโภคอาหารที่มีสารไนเตรตหรือไนไตรท เช่น เนื้อแดง ไส้กรอก แฮม เบคอน และวิตามินซียังสามารถสร้างคอลลาเจน ซึ่งเป็นเสมือนตาข่ายคลุมเซลล์ให้พ้นจากมะเร็งด้วย อย่างไรก็ตามหากวิตามินซีนั้นมีสารประเภทไบโอเฟลวานอยด์ (Bioflavanoid) ร่วมอยู่ด้วยก็ยิ่งเป็นการเพิ่มฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ดียิ่งขึ้น นอกจากนี้วิตามินซียังช่วยป้องกันสารอื่นไม่ให้ถูกออกซิไดซ์ด้วย เช่น จิตามินเอ วิตามินบีหนึ่ง วิตามินบีสอง วิตามินอีและกรดแพนโธนิค

3) ช่วยสร้าง และรักษาสภาพของคอลลาเจน วิตามินซีมีบทบาทสำคัญในการสร้างและการรักษาระดับของสารคอลลาเจน ซึ่งเป็นโปรตีนที่ใช้ในการสร้างกระดูก ฟัน เส้นเอ็น และผิวหนัง คอลลาเจน ประกอบด้วย ไฮดรอกซีโพรลีน ซึ่งได้จากการเปลี่ยนโพรลีน ซึ่งคอลลาเจนช่วยให้กระดูกและฟันมีสภาพแข็งแรงสมบูรณ์ และซ่อมแซมเมื่อมีการแตกหักหรือร้าวบิ่น บำรุงกระดูกและเสริมสร้างความหนาแน่นของกระดูก โดยเฉพาะบริเวณส่วนปลายกระดูก และข้อต่อ ลดอาการปวดจากโรคไขข้อต่างๆ ช่วยป้องกันโรคเลือดออกตามไรฟัน

4) ช่วยบำรุงรักษาผิว วิตามินซีช่วยในการส่งเสริมสุขภาพผิวพรรณ สร้างเซลล์ผิวหนังใหม่ๆ ป้องกันการเกิดภาวะริ้วรอยก่อนวัย ช่วยต้านการเกิดเม็ดสีเมลานินอันเป็นต้นเหตุของการเกิดฝ้า ช่วยเร่งกระบวนการการรักษาแผล โดยเฉพาะแผลที่ถูกไฟไหม้น้ำร้อนลวก อีกทั้งช่วยในการสร้างสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในหลอดเลือดฝอย ซึ่งป้องกันการฟกช้ำดำเขียวหรือเลือดออกใต้ผิวหนัง การขาดวิตามินซีส่งผลให้บาดแผลหายช้าเพราะการสร้างเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่แผลไม่เป็นปกติ

5) ปฏิกิริยาต่างๆต่อสารในร่างกาย ช่วยให้ร่างกายดูดซึมธาตุเหล็กได้ดีขึ้นเป็นการป้องกันโรคโลหิตจาง โดยวิตามินซีจะเปลี่ยนเหล็กในอาหาร จากเฟอร์ริกไอออนให้เป็นเฟอร์รัสไอออนและยังรวมกับเหล็กเป็นสารอณูเล็กทำให้ดูดซึมได้ดีขึ้น และช่วยทำให้ทรายเฟอร์รินปลดปล่อยเหล็กออกมาสู่กระแสเลือดเพื่อนำไปใช้สร้างเฟอร์ทิน ซึ่งธาตุเหล็กเป็นแร่ธาตุสำคัญที่ร่างกายเราใช้ในการสร้างเม็ดเลือดแดง ดังนั้นภาวะโลหิตจางจึงเกี่ยวพันกับปริมาณธาตุเหล็กในร่างกาย มีข้อสังเกตว่าเหตุใดบางคนรับประทานอาหารที่ธาตุเหล็กสูงกลับเป็นโรคโลหิตจางนั้น เป็นเพราะว่าธาตุเหล็กในอาหารหากไม่ได้อยู่ในรูปของเฟอร์รัส เมื่อเคลื่อนผ่านลำไส้เล็กร่างกายจะไม่สามารถดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้

ช่วยเปลี่ยนกรดโฟลิคให้เป็นกรดโฟลินิค ซึ่งช่วยป้องกันโรคโลหิตจางชนิดเม็ดเลือดแดงมีขนาดใหญ่ (Magaloblastic Anemia)

ช่วยในการเปลี่ยนทริปโทเฟนให้เป็นเซโรโทนิน (Serotonin) ซึ่งเป็นสารประกอบประเภทฮอร์โมน มีหน้าที่ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ และช่วยลดความดันในลูกตา ช่วยป้องกันต้อกระจก และต้อหินในผู้สูงอายุและ ป้องกันภาวะตาบอดเฉียบพลัน

ช่วยกระตุ้นการผลิตอินเตอรเฟอร์รอน ทำหน้าที่ช่วยต่อต้านเชื้อไวรัส เช่น โรคเริม ตับอักเสบ เยื่อหุ้มสมอง อักเสบ โรคหัด ปอดบวม เป็นต้น

ทำหน้าที่เป็นสารเร่งปฏิกิริยาของน้ำย่อย คลอเลสเตอรอล 7 โมโนออกซีจีเนส ซึ่งเป็นน้ำย่อยที่ใช้ในการเปลี่ยนคลอเลสเตอรอลให้เป็นกรดน้ำดี ทำให้ปริมาณคลอเลสเตอรอลในเลือดลดลง ลดการเสี่ยงต่อการเป็นโรคไขมันอุดตันในเส้นเลือด

ช่วยกระตุ้นการทำงานของน้ำย่อย การย่อย การเผาผลาญของเซลล์ภายในร่างกาย

ช่วยในกระบวนการเมตาบอลิซึ่มของกรดอะมิโนบางตัว เช่น เฟนิลอะลานีน ทรอปโทเฟน และไทโรซีน

ช่วยในการสังเคราะห์คาร์นิทีนจากไลซีน และเมทไธโอนีน ซึ่งคาร์นิทีนนี้มีประโยชน์ในการเผาผลาญกรดไขมันเพื่อให้พลังงานแก่ร่างกายแบบ Active transport

ช่วยร่างกายในการหลั่งฮอร์โมนเมื่อเกิดความเครียดโดยสังเคราะห์อีพิเนฟรินและนอร์อีพิเนฟรินที่ต่อมหมวกไต

ลดอันตรายจากโลหะหนักหรือสารพิษต่างๆที่ร่างกายได้รับจากสิ่งแวดล้อม เช่น ช่วยขับสารตะกั่วออกจากร่างกายเมื่อรวมตัวกับสังกะสี

ผลต่อการไหลเวียนโลหิต วิตามินซีช่วยลดการเกิดก้อนแข็งตัวในเส้นเลือด เพิ่มสมรรถนะของผนังหลอดเลือด ทำให้หลอดเลือดแดงมีความยืดหยุ่นตัวได้ดีขึ้น ทำให้ระดับความดันโลหิตอยู่ในภาวะปกติป้องกันการเกิดภาวะความดันโลหิตสูง และโรคหัวใจอีกด้วยซึ่งหากใช้ร่วมกับวิตามินอีก็จะทำให้ประสิทธิภาพในการป้องกันโรค หัวใจดีขึ้น

ช่วยป้องกันอาการเลือดไหลไม่หยุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประโยชน์อื่นๆ มีดังนี้ ช่วยรักษาอาการท้องผูกเนื่องจากวิตามินซีจะช่วยให้กากอาหารในลำไส้ไม่แข็งตัว จึงทำให้ขับถ่ายสะดวก และเพิ่มประสิทธิภาพของยาที่ใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ ลดอัตราการเป็นหมันในชายและทำให้สเปิร์มแข็งแรงเคลื่อนที่ได้ดีขึ้น ช่วยป้องกันโรคอัลไซเมอร์

2.2 อนุภาคนาโนเงิน (ซิลเวอร์นาโน) [4]

เป็นอนุภาคขนาดเล็กของโลหะเงินบริสุทธิ์ อนุภาคนาโนซิลเวอร์นั้นมีขนาดเล็กกว่า 100 นาโนเมตร หรือเล็กกว่าลูกเทนนิส 1 ล้านเท่า โดยทั่วไปซิลเวอร์นาโนจะอยู่ในรูปของอนุภาคของแข็งขนาดเล็กกระจายตัวอยู่ในตัวกลาง (หรือเรียกง่ายๆว่า คอลลอยด์) แต่เนื่องจาก อนุภาคของซิลเวอร์นาโนนั้นมีขนาดเล็กมาก เราจึงมองเห็นแค่เพียงน้ำที่เป็นตัวกลางเท่านั้น โดยสีของน้ำจะแตกต่างกันไปตามแต่ขนาดและรูปร่างของอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่กระจายอยู่ในนั้น

อนุภาคนาโนเงินสามารถปล่อยประจุไอออนของโลหะเงิน หรือที่เรียกว่า ซิลเวอร์ไอออน (Ag^+) ผ่านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) ซึ่ง Ag^+ สามารถเข้าสู่เซลล์ของแบคทีเรีย และจับหมู่ไธออลของโปรตีนชนิดต่างๆ ในเซลล์ ทำให้เซลล์แบคทีเรียทำงานบกพร่อง Ag^+ นั้นยังสามารถจับกับ DNA ทำให้แบคทีเรียสูญเสียความสามารถในการเพิ่มจำนวน และทำให้แบคทีเรียและเชื้อโรคต่างๆ ตายไปในที่สุด

ด้วยขนาดที่มีขนาดเล็กระดับนาโน ทำให้อนุภาคนาโนเงินมีผลในการกำจัดและยับยั้งการแพร่กระจายของเชื้อโรค โดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรียชนิด Staphylococcus aureus , Pseudomonas aeruginosa , Acinetobacter baumanii และ Escherichia coli

2.2.1 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินโดยใช้วิธีรีดักชันทางเคมี [5]

วิธีรีดักชันทางเคมีเป็นวิธีที่ใช้ทั่วไปเนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย ใช้สารเคมีน้อย และสามารถควบคุมขนาดของอนุภาคนาโนเงินได้ ตัวรีดิวซ์ที่นิยมใช้ได้แก่ โซเดียมโบโรไฮไดรด์ ไตรโซเดียมซิเตรต เซลลูโลส เป็นต้น โดยจะรีดิวซ์เกลือของเงินด้วยตัวรีดิวซ์ ทำให้ได้คอลลอยด์อนุภาคนาโนของเงิน แต่ควบคุมขนาดของอนุภาคได้ยากเนื่องจากอนุภาคแต่ละอนุภาคจะสามารถเกิดการรวมตัวกันได้ (Coagulation) หรืออาจเกิดปฏิกิริยาที่รวดเร็วทำให้ได้อนุภาคที่มีขนาดใหญ่ขึ้น จึงต้องมีการเติมสารช่วยให้อยู่ตัว (Stabilizer) หรือปรับปรุงผิวของคอลลอยด์อนุภาคนาโนของเงินเพื่อทำให้คอลลอยด์อนุภาคนาโนของเงินมีความอยู่ตัวและไม่มีการรวมตัวกันเป็นอนุภาคใหญ่เมื่อเก็บไว้เป็นเวลานาน

2.2.2 surface plasmon resonance [6]

เซอร์เฟจ พลาสมอน เรโซแนนซ์ เป็นคลื่นความหนาแน่นของประจุที่เกิดจากการสั่นของอิเล็กตรอนอิสระที่มีลักษณะการสั่นพร้อมเพรียงกัน เป็นปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นบริเวณรอยผิวต่อของโลหะกับสารไดเล็กทริก เช่น ระหว่างทองหรือเงินกับอากาศหรือสารละลาย โดยที่ขนาดยอดคลื่นและความกว้างของสเปกตรัมพลาสมอนเรโซแนนซ์ของวัสดุต่างๆ จะขึ้นอยู่กับ ขนาด รูปร่าง ประเภท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของวัสดุและสภาพแวดล้อมรอบๆวัสดุนั้น โลหะชนิดอื่นนอกเหนือไปจากทองคำ ก็สามารถแสดงปรากฏการณ์เชิงแสงในลักษณะเดียวกันนี้ได้เช่นกัน เช่นอนุภาคนาโนของเงิน จะมีสีเหลืองเข้มแทนที่จะเป็นสีเงินวาวที่เราคุ้นเคย อย่างไรก็ตามโลหะส่วนใหญ่จะมีความถี่เรโซแนนซ์อยู่ในช่วงใกล้รังสียูวี ซึ่งอยู่นอกสเปกตรัมของช่วงแสงที่มองเห็น นอกจากนี้อนุภาคนาโนของโลหะเกือบทุกชนิดไม่สามารถคงตัวอยู่ในรูปอนุภาคนาโนได้นานในสภาวะแวดล้อมตามปกติ ทำให้เราไม่ค่อยพบปรากฏการณ์นี้ในโลหะชนิดอื่นๆ

2.2.3 ลักษณะสมบัติเฉพาะของนาโนซิลเวอร์ [7]

นาโนซิลเวอร์มีลักษณะสมบัติเหมือนกันกับซิลเวอร์ทั่วไป นาโนซิลเวอร์เป็นสารที่ไม่ละลายน้ำ แต่สามารถเปลี่ยนรูปเป็นไอออนซิลเวอร์ที่แตกตัวอยู่ในน้ำได้ ซึ่งสามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ต่อไป โดยนาโนซิลเวอร์ซึ่งเป็นของแข็งที่เป็นโลหะมักจะไม่ละลายน้ำ แต่จะอยู่ลักษณะรวมเป็นกลุ่มก้อน หรือในรูปของอนุภาคนาโนที่ไม่ละลายน้ำ เมื่อนาโนซิลเวอร์ปรากฏในน้ำจะแตกตัวเป็นไอออนของซิลเวอร์และเกิดการออกซิเดชันที่ผิว ซึ่งจะทำให้ได้ไอออนของโลหะที่ถูกออกซิไดซ์ในรูปของ Ag^{+} ที่ล้อมรอบด้วยนาโนซิลเวอร์ที่ยังอยู่ในรูปโลหะหรืออนุภาคนาโนอยู่ในน้ำ อนุภาคนาโนซิลเวอร์เมื่อปรากฏในน้ำจึงจะให้ไอออนของซิลเวอร์ด้วย ซึ่งในการพิจารณาถึงเคมีของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ จึงต้องครอบคลุมถึงไอออนของซิลเวอร์ร่วมด้วย

จากการที่นาโนซิลเวอร์มีขนาดเล็กกว่าซิลเวอร์ทั่วไปมากจึงทำให้มีลักษณะสมบัติในส่วนของพื้นผิวที่แตกต่างกันไป เช่น มีแนวโน้มที่จะระเบิดได้ซึ่งมาจากการที่สารนาโนซิลเวอร์มักมีอนุภาคที่มีขนาดเล็ก และเล็กกว่าซิลเวอร์ทั่วไปอย่างมาก การสะสมหรือรวมตัวเป็นฝุ่นของสารนาโนซิลเวอร์จึงจะทำให้เกิดการระเบิดได้ นอกจากนี้นาโนซิลเวอร์สามารถรวมเป็นก้อนกรานูลได้ ซึ่งเกิดขึ้นจากการที่สารนาโนซิลเวอร์มีขนาดเล็กมารวมกัน แต่ยังคงมีขนาดในระดับเล็กมาก เช่น สารนาโนซิลเวอร์ที่รวมกลุ่มมีขนาดเล็ก 15 หรือ 20 นาโนเมตร เป็นต้น ส่งผลให้ลักษณะสมบัติอื่นๆ เช่น พื้นที่ผิว ชนิดประจุบนพื้นผิว รวมทั้งลักษณะควอนตัมแตกต่างจากซิลเวอร์ทั่วไป ซึ่งส่งผลให้เกิดการนำนาโนซิลเวอร์ไปเป็นวัสดุสำหรับผลิตภัณฑ์หลายชนิด เช่น พลาสติก ผ้า กระดาษ สี และสารเคลือบได้

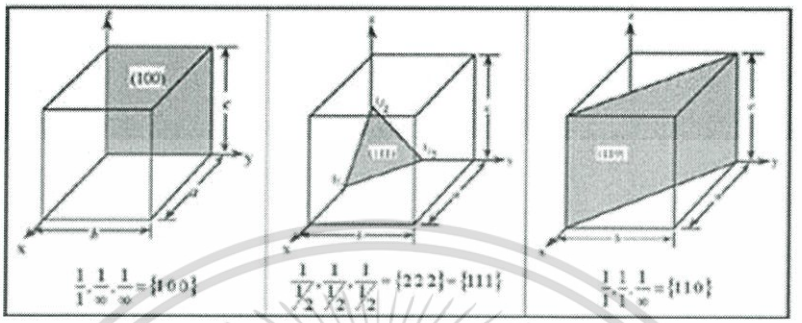
ลักษณะสมบัติเด่นของนาโนซิลเวอร์ที่นำไปสู่การใช้งานเชิงอุตสาหกรรม ได้แก่

1) คุณสมบัติการฆ่าเชื้อโรค

นาโนซิลเวอร์เป็นสารที่ฆ่าเชื้อโรคได้ในวงกว้างทั้งในส่วนจุลินทรีย์ที่เป็นแกรมบวกและแกรมลบ โดยตัวอย่างของจุลินทรีย์แกรมลบได้แก่ Acinetobacter,Escherichia,Pseudomonas, Salmonella และ Vibrio acinetobacter และ ตัวอย่างของจุลินทรีย์แกรมบวกได้แก่ Bacillus, Clostridium, Enterococcus, Listeria, Staphylococcus และ Streptococcus ขนาดของนาโนซิลเวอร์ที่มีขนาดเล็กมาก ทำให้อัตราส่วนของพื้นที่ผิวต่อปริมาตรสูง ทำให้สามารถฆ่าจุลินทรีย์ได้ดีแม้ว่าจุลินทรีย์จะมีในปริมาณน้อยมากๆ นอกจากนี้รูปร่างของซิลเวอร์ที่แตกต่างกัน เช่น ทรงกลม แท่ง หรือแผ่นสามเหลี่ยม ทำให้เกิดการกำจัดจุลินทรีย์แกรมลบได้แตกต่างกันอีก โดยนาโนซิลเวอร์ที่มีรูปร่างแผ่นสามเหลี่ยมสามารถกำจัดจุลินทรีย์ได้มีประสิทธิภาพมากที่สุด เนื่องจากระนาบด้านบน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นบริเวณที่มีการจัดเรียงตัวที่ทำให้พื้นที่ผิวมีความหนาแน่นของอะตอมซิลเวอร์สูงสุด เช่น การเรียงตัว {111} เป็นต้น ในขณะที่นาโนซิลเวอร์ทรงกลมจะมีลักษณะเป็น {100} โดยมีส่วนน้อยที่เป็น {111} ส่วนนาโนซิลเวอร์แบบแท่งจะมีด้านของเป็น {100} และมีส่วนด้านปลายเท่านั้นที่เป็น {111} ดังแสดงในรูป



รูปที่ 2.2 ลักษณะโครงสร้างของผลึกของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ [7]

แม้ว่าลักษณะสมบัติการฆ่าเชื้อโรคของนาโนซิลเวอร์มีการค้นคว้าวิจัยกันมาก แต่ความเข้าใจในกลไกการกำจัดจุลินทรีย์ของนาโนซิลเวอร์กับไม่ชัดเจน โดยจากงานวิจัยหลายอนุภาคนาโนซิลเวอร์จะไปยึดติดและผ่านทะลุเข้าไปในผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ ทำให้โครงสร้างของเมมเบรนของเซลล์เปลี่ยนไปและไม่สามารถควบคุมการผ่านเข้าออกของไซโตพลาสมิกเมมเบรน ทำให้สิ่งต่างๆ ซึมผ่านเมมเบรนได้ซึ่งทำให้เซลล์ตายในที่สุด นอกจากนี้ได้มีการรายงานกลไกในการฆ่าเชื้อโรคของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ว่ามาจากการเกิดอนุมูลอิสระซึ่งอนุมูลอิสระเหล่านี้ทำลาย เมมเบรนทำให้ นาโนซิลเวอร์สามารถผ่านเข้าออกเซลล์ได้ ซึ่งทำให้เซลล์จุลินทรีย์ตาย ในจากงานวิจัยของ Hatchett และ White และงานวิจัยของ Morones และคณะ ได้อธิบายว่าการทำลายเซลล์อาจมาจากการทำปฏิกิริยาของอนุภาคนาโนซิลเวอร์กับสารประกอบ DNA ซึ่งทำให้เซลล์ไม่สามารถแบ่งตัวได้ และไม่สามารถสร้าง DNA ได้ ซึ่งทำให้เซลล์ตายในที่สุด ในขณะที่งานวิจัยของ Shrivastava และคณะ ได้อธิบายว่าอนุภาคนาโนซิลเวอร์ทำให้สาร phosphotyrosine ในเปปไทด์ของแบคทีเรียลดน้อยลง ซึ่งจะทำให้การส่งผลต่อการส่งสัญญาณของเซลล์ทำให้เกิดการขัดขวางการเจริญเติบโตของเซลล์ และทำให้เซลล์ตายในที่สุด

นอกจากนี้ได้มีการนำนาโนซิลเวอร์ไปใช้งานในการฆ่าเชื้อรา เช่น Aspergillus , Candida , and Saccharomyces เป็นต้น โดยคาดว่ากลไกลในการกำจัดเชื้อโรคจะเป็นกลไกเดียวกันกับการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย และได้มีการนำอนุภาคนาโนซิลเวอร์ไปใช้ในการฆ่าเชื้อไวรัส HIV-1 โดยพบว่าอนุภาคนาโนซิลเวอร์สามารถกำจัดเชื้อไวรัสชนิดนี้ได้ดีกว่าอนุภาคนาโนโกลด์ (Gold nanoparticles)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) คุณสมบัติ surface plasmon resonance

เป็นคุณสมบัติของนาโนซิลเวอร์ที่มีขนาดเล็กมากที่ส่งผลให้อนุภาคของนาโนซิลเวอร์มีขนาดเล็กกว่าความยาวคลื่นแสงที่มาตกกระทบ ทำให้เกิดปรากฏการณ์เชิงแสงเรียกว่า surface plasmon resonance ส่งผลให้อนุภาคนาโนซิลเวอร์ดูดกลืนแสงสเปคตรัม โดยช่วงความยาวคลื่นของแถบคลื่นแสงที่ถูกดูดกลืนจะเป็นช่วงความยาวคลื่นที่สั้งลงกว่าเดิม คุณสมบัตินี้ของนาโนซิลเวอร์ได้ถูกนำไปใช้ในการผลิตเซนเซอร์สำหรับการแพทย์ และเซนเซอร์ในรูปแบบ lap-on-a-chip โดยพบว่าขนาดของอนุภาคนาโนซิลเวอร์จะส่งผลต่อคลื่นแสงที่ถูกดูดกลืน โดยยิ่งมีขนาดเล็กจะทำให้ช่วงความยาวคลื่นของสเปกตรัมของแสงที่ถูกดูดกลืนจะสั้นลง โดยอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่เล็กลง (ขนาดน้อยกว่า 10 นาโนเมตร) จะสอดคล้องกับการดูดกลื่นคลื่นในแถบแสงสีแดงและช่วยขยายความกว้างของตำแหน่งคลื่นการดูดซับด้วย นอกจากนี้คุณสมบัตินี้ได้ยังนำไปใช้ในการทำเลเซอร์และระบบการนำพายา (drug delivery) ซึ่งอนุภาคนาโนซิลเวอร์ไม่เพียงแต่ดูดซับโฟตอนแม้ว่าจะอยู่ห่างจากต้นกำเนิดแสงเท่านั้น แต่ช่วยส่งผ่านความร้อนไปยังโพลิเมอร์โดยรอบ ทำให้ยาที่ถูกห่อหุ้ม (encapsulated) สามารถกระจายตัวออกมาจากแคปซูลโพลิเมอร์ได้ คุณสมบัตินี้ของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ได้ถูกนำไปใช้ในการรักษาด้วยเลเซอร์โดยช่วงระยะเวลาในการรักษาโรคด้วยเลเซอร์ร่วมกับ polyelectrolyte multilayer capsule จะขึ้นอยู่กับขนาดของอนุภาคนาโนซิลเวอร์อีกด้วย

3) คุณสมบัติการเรืองแสง

เป็นคุณสมบัติหนึ่งของวัสดุนาโนที่เป็นของแข็งเมื่อมีขนาด 30-80 นาโนเมตร คือการเปลี่ยนช่วงคลื่นแสง อย่างเช่น การปลดปล่อยความเข้มและ photostablilty เป็นต้น ซึ่งส่งผลต่อการเรืองแสงของวัสดุโดยขนาดของอนุภาคนาโนซิลเวอร์จะเพิ่มความเข้มแสงในช่วงคลื่นที่เกิดการเรืองแสงที่มีควอนตัมต่ำออกมา โดยได้นำไปใช้งานใน immunoassay และการตรวจ DNA/RNA

2.2.4 ประโยชน์ของนาโนซิลเวอร์ [8]

ซิลเวอร์หรือเงินเป็นโลหะที่มีการใช้ประโยชน์อย่างมากมายมานาน ส่วนใหญ่ใช้ทำเครื่องประดับ เครื่องใช้ในครัวเรือน เงินตรา การล้างรูป นอกจากนี้ยังใช้เป็นสารฆ่าเชื้อโรค จึงมีการใช้งานในด้านการแพทย์และสุขอนามัย เช่น ใช้ภาชนะเครื่องเงินในการเก็บรักษาไวน์และน้ำ ใช้สารประกอบซิลเวอร์ทำเป็นยารักษาแผลติดเชื้อ และใช้ซิลเวอร์ไนเตรต 1% มาทำเป็นยาหยอดตาป้องกันการติดเชื้อ

ปัจจุบันได้มีการนำเอานาโนเทคโนโลยีมาแยกโลหะเงินให้มีขนาดเล็กลงในระดับนาโนเมตร เรียกว่า อนุภาคนาโนซิลเวอร์ ขนาดที่เล็กลงมากทำให้ไปเพิ่มพื้นที่ผิวในการสัมผัสกับเชื้อโรคทำให้คุณสมบัติในการขจัดเชื้อโรคเพิ่มประสิทธิภาพมากขึ้นกว่าเดิมหลายร้อยเท่า เมื่ออนุภาคนาโนซิลเวอร์สัมผัสกับเชื้อโรค จะไปเกาะที่ผนังเซลล์และแทรกเข้าไปภายในและจะไปเกาะกับหมู่ -SH (Sulphydryl) ของเอนไซม์ ส่งผลให้เกิดการยับยั้งการเพิ่มจำนวนและการเจริญของเชื้อโรค ทำให้เชื้อโรคตายในที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เทคโนโลยีนาโนซิลเวอร์ได้นำไปใช้ในงานอุตสาหกรรมต่างๆ มากมาย เช่น ผลิตภัณฑ์อุปโภคบริโภคต่างๆ อุปกรณ์ทางการแพทย์ เครื่องใช้ไฟฟ้า โดยนำไปเคลือบผนังตู้เย็นป้องกันเชื้อโรค ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ใช้อนุภาคนาโนซิลเวอร์ เช่น

1. กลุ่มของสิ่งทอ ที่ใช้อนุภาคนาโนซิลเวอร์ในการกำจัดกลิ่นอันไม่พึงประสงค์ในเสื้อผ้า จากการศึกษาพบว่าการผสมอนุภาคนาโนซิลเวอร์ลงไปในเนื้อผ้า เมื่อมีการใช้งานและผ่านการซักไประยะหนึ่ง อนุภาคนาโนซิลเวอร์จะมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์พวก E.coli และ Staphylococcus aureus ได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ในการผสมอนุภาคนาโนซิลเวอร์ลงไปในเนื้อผ้ามักใช้อัตราส่วนของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ 1 ส่วนต่อเส้นใยผ้า 1 ล้านส่วน ซึ่งถือว่าเป็นปริมาณที่เล็กน้อยมาก แต่เพียงแค่นี้ก็มากพอที่จะหยุดยั้งการเจริญของเชื้อโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ ยังช่วยระงับกลิ่นเหงื่อด้วย

2. เครื่องใช้ไฟฟ้า ใช้อนุภาคนาโนซิลเวอร์ในการผลิตตู้เย็น พบว่าสามารถช่วยรักษาความเย็นและช่วยยืดอายุของอาหารที่เก็บในตู้เย็น นอกจากนี้ยังมีการใช้อนุภาคนาโนซิลเวอร์ในการผลิตเครื่องซักผ้า เนื่องจากพบว่าอนุภาคนาโนซิลเวอร์สามารถกำจัดเชื้อโรคได้เป็นอย่างดี

ด้วยมีพื้นที่ผิวสูงของอนุภาคนาโนซิลเวอร์จึงทำให้ไวต่อปฏิกิริยาทำให้สามารถทำลายแบคทีเรียและจุลชีพทั้งที่เป็นประโยชน์และโทษได้ดี ถ้าหากแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ถูกทำลายย่อมส่งผลต่อวงจรชีวิตของคนและสัตว์อย่างแน่นอน นอกจากอนุภาคนาโนซิลเวอร์จะทำลายแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ตามธรรมชาติแล้ว ยังเป็นภัยต่อการควบคุมแบคทีเรียที่เป็นอันตรายอีกด้วย เนื่องจากไม่เพียงแบคทีเรียที่เป็นอันตรายจะสามารถต้านทานอนุภาคนาโนซิลเวอร์ได้แล้วยังสามารถต้านทานสารปฏิชีวนะที่ใช้ในปัจจุบันได้อีกด้วย

การประเมินความเสี่ยงของสิ่งแวดล้อมที่เกิดจากผลิตภัณฑ์ต่างๆ ที่ใช้อนุภาคนาโนซิลเวอร์นับเป็นสิ่งที่พึงกระทำ มาร์ทิน เชรินเจอร์ (Martin scheringer) และคณะ จากสถาบันวิศวกรรมเคมีและชีวภาพ (Institute for Chemical and Bioengineering) ประเทศสวิตเซอร์แลนด์ได้แสดงแผนภาพเส้นทางการปนเปื้อนของซิลเวอร์จากผลิตภัณฑ์พลาสติกและสิ่งทอสู่สิ่งแวดล้อม พอล เวสเตอร์ฮอฟฟ์ (Paul Westerhoff) วิศวกรสิ่งแวดล้อมของมหาวิทยาลัยแอริโซนา (Arizona State University) สนใจวงจรชีวิตของนาโนซิลเวอร์โดยศึกษาจากผลิตภัณฑ์ถุงเท้าขจัดกลิ่นที่มีอนุภาคนาโนซิลเวอร์เป็นองค์ประกอบ ต้องการทราบปริมาณของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่หลุดมากับน้ำซักล้าง และปนเปื้อนสู่ระบบบำบัดน้ำเสียเพื่อประเมินความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม

ดาริน เฟอร์จีสัน (Darin Y. Furgeson) และคณะ ได้ตีพิมพ์ผลงานในวารสาร Small ฉบับที่ 5 เล่มที่ 16 (2009) โดยได้ศึกษาผลกระทบจากอนุภาคนาโนซิลเวอร์ต่อปลาม้าลาย (Zebrafish) ซึ่งเป็นปลาที่มีลักษณะคล้ายคน พบว่าปลาบางส่วนตาย และบางส่วนที่รอดชีวิตก็มีลักษณะที่เปลี่ยนแปลงไป อนุภาคซิลเวอร์มีผลให้ตา ถุงลม หางทำงานผิดปกติ และตัวอ่อนบางตัวมีของเหลวรอบหัวใจซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดภาวะหัวใจล้มเหลว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 วิธีการหาปริมาณวิตามินซี

2.3.1 การหาปริมาณวิตามินซีโดยการไทเทรตแบบรีดอกซ์ [9]

1) หลักการ

Iodine (I_2) เป็นสารออกซิไดซ์ที่แรงปานกลางและเป็นสารที่ละลายน้ำได้น้อย ดังนั้นในการเตรียมสารละลายไอโอดีนจึงเตรียมได้โดยการละลายไอโอดีนด้วยสารละลาย KI เมื่อละลายแล้ว I_2 จะอยู่ในรูปของ I_3^- (Triiodide Ion) ที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่าง I_2 กับ I^- ดังสมการ

$$I_2 + I^- \longrightarrow I_3^-$$

I_2 จัดเป็นสารทุติยภูมิ ทั้งนี้เพราะไอโอดีนเป็นสารที่ระเหิดง่าย ดังนั้นก่อนนำสารละลายไอโอดีนไปใช้เป็นไทแทรนท์จะต้องทำมาตรฐานสารละลายนี้ก่อน เช่นการไทเรตสารละลายไอโอดีนกับ As_2O_3 สารละลายไอโอดีนเป็นสารละลายที่มีสีเราจึงใช้เป็นอินดิเคเตอร์โดยตัวมันเองได้ แต่ไม่เป็นที่นิยม และมักจะใช้น้ำแป้งเป็นอินดิเคเตอร์ในการไทเทรตที่เกี่ยวข้องกับไอโอดีน

การไทเทรตที่เกี่ยวข้องกับการใช้ไอโอดีน มีได้ 2 รูปแบบ คือ (ซึ่งปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจัดเป็นปฏิกิริยารีดอกซ์ ที่มีไอโอดีนเป็นตัวออกซิไดซ์)

1. การไทเทรตโดยตรง (Direct Titration) หรือมีชื่อเรียกว่า Iodimetry ซึ่งหมายถึงการเตรียมสารละลายไอโอดีนขึ้นมาทำการไทเทรตกับสารละลายของตัวรีดิวซ์ เช่น โซเดียมไธโอซัลเฟต ($Na_2S_2O_3$) โดยตรง และมีน้ำแป้งเป็นอินดิเคเตอร์ ดังนี้

$$I_3^- + 2S_2O_3^{2-} \longrightarrow 3I^- + S_4O_6^{2-}$$

หรือ

$$I_2 + 2S_2O_3^{2-} \longrightarrow 2I^- + S_4O_6^{2-}$$

หรือกับตัวรีดิวซ์ที่แรงอื่นๆ เช่น $SnCl_2$, H_2SO_3 , H_2S เป็นต้น สามารถทำปฏิกิริยากับไอโอดีนได้อย่างรวดเร็วในสารละลายที่มีฤทธิ์เป็นกรด แต่ถ้าเป็นตัวรีดิวซ์ที่อ่อน เช่น As_2O_3 หรือ Sb_2O_3 สามารถทำปฏิกิริยากับไอโอดีนได้สมบูรณ์ เมื่อสารละลายมีฤทธิ์เป็นกลาง หรือกรดเพียงเล็กน้อย

2. การไทเทรตโดยอ้อม (Indirect Titration) หรือมีชื่อเรียกว่า Iodometry ซึ่งหมายถึง การไทเทรตไอโอดีนที่เกิดจากปฏิกิริยาอื่นอีกทีหนึ่ง มิได้เตรียมขึ้นมาโดยตรง เช่น ต้องการไทเทรต $Na_2S_2O_3$ กับไอโอดีน จะใช้ไอโอดีนที่เกิดปฏิกิริยาระหว่างไอโอไดร์กับอาร์ซีเนต ในสารละลายที่เป็นกรดมากๆ

$$H_3AsO_4 + 2H^+ + 2I^- \longrightarrow H_3AsO_3 + H_2O + I_2$$

ซึ่ง I_2 ที่เกิดจากปฏิกิริยานี้ สามารถไทเทรตกับ $Na_2S_2O_3$ ได้

การไทเทรตด้วยสารละลายไอโอดีนสามารถนำมาประยุกต์ใช้หาปริมาณสารตัวอย่างได้ เช่น การไทเทรตหาปริมาณ Ascorbic acid หรือวิตามินซี โดย ascorbic acid หรือ วิตามินซี ซึ่งเป็น reducing agent สามารถถูกออกซิไดซ์ด้วยไอโอดีนดังสมการ

$$I_2 + C_4H_6O_4(OH)C{=}COH \longrightarrow 2I^- + C_4H_6O_4C(=O)\text{-}C{=}O + 2H^+$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) วิธีการทดลอง

1. การทำมาตรฐาน (Standardisation) สารละลายมาตรฐาน $Na_2S_2O_3$

ปิเปตสารละลาย KIO_3 10.00 mL ลงใน Erlenmeyer flask เติม 10 % KI ประมาณ 1 mL และ 1 M H_2SO_4 1 mL รีบไทเทรตไอโอดีนที่ได้โดยใช้ $Na_2S_2O_3$ ที่เตรียมไว้ เมื่อสีของไอโอดีนจางลงมากแล้ว เติมน้ำแป้งลงไป 2 mL ไทเทรตต่อไปจนไม่มีสี บันทึกปริมาตร $Na_2S_2O_3$ ที่ใช้ในการไทเทรต ทำการทดลองซ้ำอีก 2 ครั้ง คำนวณหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลาย $Na_2S_2O_3$ ในหน่วย mol/L

2. การทำมาตรฐาน (Standardisation) สารละลายมาตรฐาน I_2

ปิเปตสารละลาย I_2 10.00 mL ลงใน Erlenmeyer Flask เติม 1 M H_2SO_4 1 mL แล้วไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐาน $Na_2S_2O_3$ ที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนแล้ว เมื่อสีของไอโอดีนจางลงมากแล้วจึงเติมน้ำแป้ง 2 mL ไทเทรตต่อจนถึงจุดยุติ บันทึกปริมาตร $Na_2S_2O_3$ ที่ใช้ในการไทเทรต ทำการทดลองซ้ำอีก 2 ครั้ง คำนวณหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลาย I_2 ในหน่วย mol/L

3. การหาปริมาณของวิตามินซีหรือกรดแอสคอร์บิค (Ascorbic acid)

3.1 การเตรียมตัวอย่าง

นำวิตามินซีมา 1 เม็ด น้ำไปชั่งแบบละเอียด บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน แล้วนำไปบดให้ละเอียดในบีกเกอร์ เติมน้ำกลั่นลงไป 30-40 mL คนด้วยแท่งแก้วจนผงเม็ดยาละลายหมด (ถ้ามีตะกอนมากให้กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 เทสารละลายของเม็ดยาลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 mL เขย่าสารละลายให้เข้ากันเติมน้ำกลั่นจนถึงขีดระดับบอกปริมาตร

3.2 การหาปริมาณวิตามินซี

ปิเปตสารละลายตัวอย่างวิตามินซีที่เตรียมข้างต้น 25.00 mL ลงใน Erlenmeyer Flask เติมน้ำแป้ง 5 mL ทำการไทเทรตด้วยสารละลาย I_2 ที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนแล้วอย่างรวดเร็ว (เพื่อลด air oxidation ของ ascorbic acid) ให้ระวังบริเวณที่ใกล้จะถึงจุดยุติซึ่งเป็นจะสีน้ำเงินของ starch-I_3^- complex บันทึกปริมาตร I_2 ที่ใช้ในการไทเทรต ทำการทดลองซ้ำอีก 2 ครั้ง คำนวณหาปริมาณของวิตามินซี (ascorbic acid) ในหน่วยมิลลิกรัม (mg) ต่อ 1 เม็ด และในหน่วยร้อยละโดยน้ำหนัก (% w/w) ต่อเม็ด

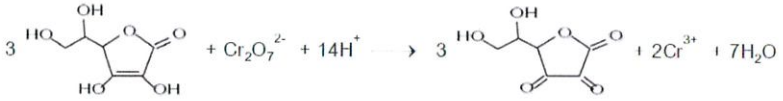
2.3.2 การหาปริมาณกรดแอสคอร์บิกในเม็ดวิตามินซีโดยวิธีโพเทนชิโอเมตริกรีดอกซ์ไทเทรชัน [10]

1) หลักการ

โพเทนชิโอเมตริกไทเทรชันเป็นวิธีการหาปริมาณสารโดยอ้อมของวิธีโพเทนชิโอเมตรีซึ่งสามารถใช้ได้กับปฏิกิริยาหลากหลายรูปแบบ ถ้านำไปใช้กับปฏิกิริยารีดอกซ์จะใช้ขั้วไฟฟ้าชี้บอกเป็นขั้วไฟฟ้าเฉื่อย เช่น ขั้วแพลตินัม ทอง หรือ glassy carbon ค่าศักย์ไฟฟ้าของขั้วจะแปรผันโดยตรงกับอัตราส่วนของ log a_{red}/a_{ox} ตามสมการของเนินสท์ โดยการวัดค่าศักย์ไฟฟ้าของสารละลายทุกๆ ครั้งที่เติมไตแตรนท์ลงไปแล้วนำมาพลอตกราฟระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้าที่วัดได้เทียบกับปริมาตรของไทแทรนท์ จะได้ไทเทรชันเคอร์ฟที่สามารถหาจุดยุติได้เช่นเดียวกันกับการไทเทรตกรดเบส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการทดลองบทนี้จะเป็นการไทเทรตระหว่างกรดแอสคอร์บิกกับสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต ซึ่งมีปฏิกิริยาเป็นดังนี้



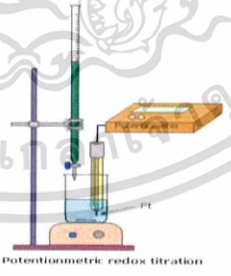
รูปที่ 2.3 ปฏิกิริยาระหว่างกรดแอสคอร์บิกกับสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต [10]

2) การทดลอง

การไทเทรต ค่อยๆ รินสารละลาย 0.01 M KCr ใส่ลงในบิวเรตที่สะอาด ชั่งวิตามิน 1 เม็ด ใส่ในครกบดยา บดและละลายด้วยน้ำกลั่นและกรองใส่ลงในบีกเกอร์ทรงสูงขนาด 100 mL โดยใช้กระดาษกรองอย่างหยาบ ทำการฉีดล้างตัวยาออกมาให้ได้มากที่สุด เติมน้ำกลั่นลงไปให้ได้ปริมาตรรวมประมาณ 40 mL เติม conc. H_2SO_4 ลงไป 1 mL ใส่แท่งแม่เหล็กลงในบีกเกอร์ นำไปวางบน magnetic stirrer

ต่อขั้วไฟฟ้าเข้ากับเครื่องโพเทนชิโอมิเตอร์พร้อมกับเปิดสวิชท์ ล้างขั้วไฟฟ้าด้วยน้ำกลั่นให้สะอาด แล้วซับน้ำที่ตกค้างด้วยกระดาษทิชชู และจุ่มลงในสารละลายที่จะทำการไทเทรตดังรูปที่ 2.4 เปิดเครื่องคนสารละลาย ปรับให้มีความเร็วพอเหมาะ อ่านค่าศักย์ไฟฟ้าก่อนทำการไทเทรต

ทำการไทเทรตโดยปล่อยสารละลายมาตรฐาน 0.1 M KCr ลงไปทำการไทเทรตครั้งละ 0.5 mL อ่านค่าศักย์ไฟฟ้าของเซลล์ไปพร้อมๆ กับ plot กราฟจนได้ข้อมูลมากพอที่จะหาจุดยุติได้จึงทำการไทเทรต ทำการทดลองซ้ำอีก 2 ครั้ง



รูปที่ 2.4 การทำโพเทนชิโอเมตริกรีดอกซ์ไทเทรชัน [10]

จากข้อมูลการไทเทรต เขียนกราฟไทเทรชันระหว่างค่า mV กับปริมาตรของสารละลาย KCr ที่ใช้สร้างกราฟอนุพันธ์อันดับที่ 1 และกราฟอนุพันธ์อันดับที่ 2

คำนวณปริมาณกรดแอสคอร์บิกเป็น มิลลิกรัมเม็ด (mg/tab) โดยใช้จุดยุติที่ได้จากกราฟอนุพันธ์ที่ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.3 การหาปริมาณวิตามินซีโดยวิธีคูลอมเมตริกไทเทรชัน (Micro scale) [11]

1) หลักการ

การวิเคราะห์โดยวิธีคูลอมบ์เมตรีสามารถทำได้ 2 วิธี คือ 1) การทำให้เกิดอิเล็กโทรไลซิสแบบควบคุมศักย์ไฟฟ้าของขั้วทำงานให้คงที่เรียกว่า Primary เป็นวิธีที่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณสารได้โดยตรง 2) แบบควบคุมกระแสในวงจรให้คงที่ ที่มีชื่อเรียกว่า Secondary coulometry หรือ Coulometic titration เป็นวิธีที่ไม่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณของไอออนที่ต้องการวิเคราะห์ได้โดยตรง เป็นการวิเคราะห์หาโดยอ้อม กล่าวคือมีการ generate ให้เกิดสารที่เป็น titrant ที่ขั้วไฟฟ้าแล้วสารที่เป็น titrant เข้าทำปฏิกิริยากับสารที่การหาปริมาณจนหมด จากนั้นทำการหาปริมาณไฟฟ้าจากเวลา และกระแสที่ให้กับขั้วไฟฟ้าจนถึงจุดยุติ โดยยึดหลักที่ว่า ปริมาณไฟฟ้า 96,487 คูลอมบ์ สามารถทำให้เกิดอิเล็กโตรไลซิสของไอออนที่สนใจได้ 1 กรัมสมมูล ปริมาณไฟฟ้าทั้งหมดหาจากสมการ

$$Q = IT$$

$$\text{จำนวนกรัมสมมูลของสาร} = \frac{\text{ปริมาณไฟฟ้า}(Q)}{96{,}487}$$

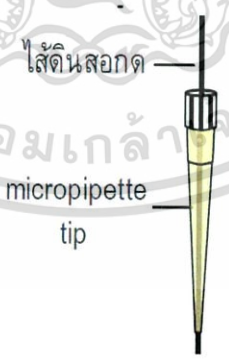
$$\text{จำนวนกรัมสมมูลของสาร} = \frac{\text{น้ำหนักสาร}}{\text{น้ำหนักสมมูล}} = \frac{\text{น้ำหนักสาร}}{\text{น้ำหนักโมเลกุล}/n}$$

$$\text{น้ำหนักสาร} = \frac{Q \times \text{น้ำหนักโมเลกุล}}{96{,}487 \times n}$$

2) การทดลอง

การเตรียมขั้วไฟฟ้า

1. ขั้วเจนเนอเรเตอร์ ใช้ไส้ดินสอกดขนาด 9 mm เสียบลงไปใน micropipette tip โดยดันให้พ้นปลายของ tip ออกมาประมาณ 5 cm ดังรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.5 ขั้วเจนเนอเรเตอร์ [11]

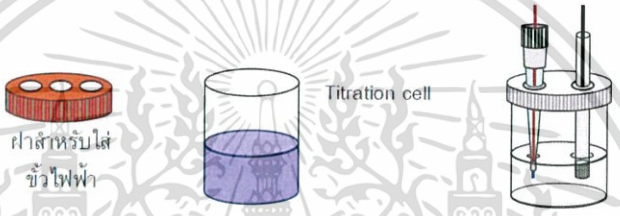
2. ขั้วไฟฟ้าช่วย (Auxiliary electrode) เติมสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์อิ่มตัว (ใช้เข็มฉีดยา) ใส่ลงในหลอดแก้วที่ปิดท้ายด้วยปูนปลาสเตอร์หรือเซรามิก (เตรียมไว้ให้แล้ว) ประมาณ ¾ ของหลอด และใส่ไส้ดินสอกดลงไปดังรูป 2.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รูปที่ 2.6 ขั้วไฟฟ้าช่วย [11]

การเตรียมเซลล์ไฟฟ้า เซลล์ที่ใช้สำหรับการไทเทรตประกอบด้วยส่วนต่างๆ ดังนี้



รูปที่ 2.7 ไทเทรชันเซลล์ [11]

การหาปริมาณกรดแอสคอร์บิกในเม็ดวิตามินซี ชั่งวิตามินซี 1 เม็ด ใส่ในครกบดยา ทำการบดและละลายด้วยน้ำกลั่น และกรองใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 mL ปรับปริมาตรสารนี้ด้วยน้ำกลั่น ปิเปตสารละลาย 1.0 M KI 3.0 mL ใส่ในไทเทรชันเซลล์ ตามด้วยสารละลายตัวอย่างวิตามินซี 1.00 mL เติมน้ำแป้งลงไป หยด ใส่แท่งแม่เหล็กลงไป นำฝาที่มีอิเล็กโตรดเสียบอยู่ ปิดลงไปบนไทเทชันเซลล์ ต่อเซลล์ไฟฟ้าเข้ากับเครื่องจ่ายไฟกระแสคงที่ดังรูป 2.7 โดยให้ขั้วเจนเนอเรเตอร์เป็นขั้วแอโนด เปิดเครื่องคนสารและปรับให้มีความเร็วพอเหมาะ กดปุ่ม Start ที่เครื่องจ่ายไฟกระแสคงที่ สังเกตสีของสารละลายเมื่อมีสีน้ำเงินจาง ๆ เกิดขึ้นให้กดปุ่มหยุด อ่านค่ากระแสและเวลาที่ใช้ไป ล้างเซลล์และขั้วไฟฟ้าให้สะอาดซับหยดน้ำด้วยกระดาษทิชชู่ และทำการทดลองซ้ำอีก 2 ครั้ง จากผลการทดลองทั้ง 3 ครั้ง ให้คำนวณหาปริมาณกรดแอสคอร์บิกเป็น มิลลิกรัมเม็ด

2.4 ยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV-Vis spectrophotometer) [12]

การหาปริมาณสารใดสารหนึ่งโดยวิธีการทางห้องปฏิบัติการมีอยู่หลายวิธี แต่วิธีที่นิยมใช้มากที่สุดคือการวัดความเข้มของสี (colorimetry) หรือการวัดความเข้มของแสง โดยการเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน (standard solution) ที่ทราบค่า ในระยะแรก ๆ การเปรียบเทียบความเข้มของสี อาศัยสายตา (visual colorimetry) ซึ่งมีความถูกต้องและแม่นยำต่ำ ต่อมาได้มีการนำตัวไว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

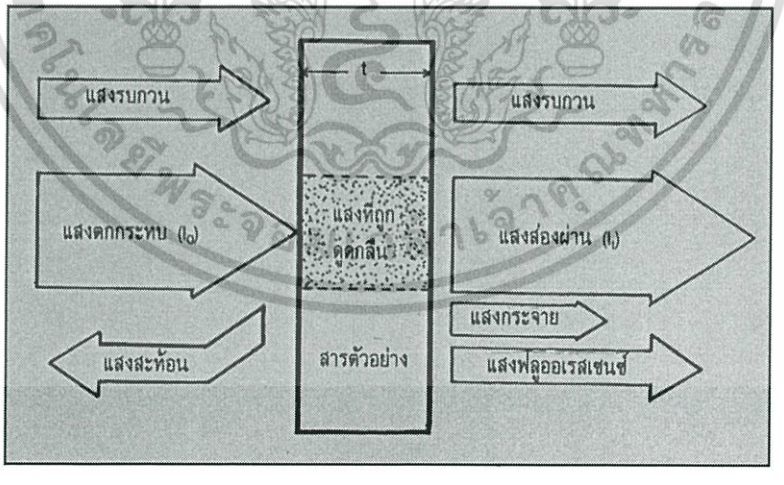
149302

แสง (photosensor) มาใช้แทนในการเปรียบเทียบด้วยสายตา จึงเรียกเครื่องมือที่ใช้ตัวไวแสงนี้ว่า “photoelectric colorimeter” หรือ “photometer” เนื่องจากสารหรือสีที่จะวัดมีความสามารถในการดูดกลืนแสง หรือปล่อยแสงที่มีช่วงความยาวคลื่น (spectrum) ที่แตกต่างกัน ดังนั้นเพื่อให้การวัดมีความจำเพาะ (specificity) และความไว (sensitivity) สูง จึงได้พัฒนาเครื่องมือที่สามารถวัดความเข้มของแสงช่วงความยาวคลื่นแคบๆ ได้อย่างต่อเนื่องตามต้องการ และใช้ตัวไวแสงที่มีประสิทธิภาพสูง เครื่องมือดังกล่าวถูกเรียกว่า “สเปกโทรโฟโตมิเตอร์” (spectrophotometer) ซึ่งในปัจจุบันได้มีการพัฒนาไปมาก มีทั้งแบบอะนาล็อก แบบดิจิตอล รวมทั้งแบบดิจิตอลที่ทำงานโดยอัตโนมัติที่มีระบบไมโครโพรเซสเซอร์ควบคุมการทำงาน

เครื่องวัดความเข้มของแสง (spectrophotometer) แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่คือ การวัดแสงที่ เปล่งออกมา (emission light) การวัดแสงที่ถูกดูดกลืน (absorption light) และการวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence light) ที่เปล่งออกมา

2.4.1 กฎของแสง [12]

เมื่อแสงตกกระทบวัตถุอาจจะเกิดการดูดกลืนแสง การส่องผ่าน การกระจาย การสะท้อนกลับหรือเกิดการเปล่งแสงฟลูออกเรสเซนซ์ แต่กฎของแสงที่นำมาใช้วัดค่าการดูดกลืนแสงถือว่ามีเฉพาะแสงที่ตกกระทบ (incident light) แสงที่ดูดกลืน (absorbed light) และแสงที่ส่องผ่าน (transmitted light) โดยไม่ได้คำนึงถึงผลของแสงรบกวน (stray light) ดังนั้นเพื่อให้การวัดความเข้มของแสงเป็นไปตามกฎดังกล่าว การผลิตเครื่องวัดการดูดกลืนแสง และการใช้งานจึงต้องป้องกันการเกิดแสงรบกวนให้น้อยที่สุด



รูปที่ 2.8 แสงที่อาจเกิดขึ้นเมื่อแสงตกกระทบสารตัวอย่าง [12]

1) กฎของแลมเบิร์ต (lambert’s law) กฎของแลมเบิร์ต (ค.ศ.1760) กำหนดว่าแสงที่ถูกดูดกลืนเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความหนาของตัวกลางที่แสงผ่าน ซึ่งสามารถหาความสัมพันธ์โดยการคำนวณทางคณิตศาสตร์ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$
\begin{aligned}
dI/dt \;\alpha\; I \\
-dI/dt &= kI \\
-dI/I &= kdt \\
\text{In } I_o/I_t &= kt \\
I_o/I_t &= e^{kt} \\
I_t &= I_o \times 10^{-0.4343\,kt} \\
I_t &= I_o \times 10^{-kt} \qquad (1)
\end{aligned}
$$

โดย k คือเศษส่วนของความหนาในหน่วยเซนติเมตร ที่ทำให้ความเข้มของแสงลดลงจากความเข้มเดิม 10 เท่า ($I_o = 10\ I_t$)

2) กฎของเบียร์ (Beer's law) กฎของเบียร์ (ค.ศ. 1852) กำหนดว่าแสงที่ถูกดูดกลืนเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสารในของเหลว เมื่อคำนวณเช่นเดียวกับกฎของแลมเบิร์ต จะได้สมการ

$$I_t = I_o \times 10^{-kc} \qquad (2)$$

เมื่อรวมกฎทั้งสองเข้าด้วยกัน (Beer-Lambert's law) โดยการบวกสมการที่ (1) และสมการที่ (2) จะได้สมการใหม่ดังนี้

$$I_t = I_o \times 10^{-\varepsilon ct}$$

แต่แสงส่องผ่าน (transmittance, T) มีค่าเท่ากับ I_t/I_o และแสงที่ถูกดูดกลืน (absorbance, A) มีค่าเท่ากับ log (I_t/I_o) ดังนั้น

$$A = \varepsilon ct = -\log T = 2 - \log \%T \qquad (3)$$

โดย ε = Molar extinction coefficient ของสารแต่ละชนิด ซึ่งจะมีค่าคงที่ในแต่ละความยาวคลื่น

c = ความเข้มข้นในหน่วย โมล/ลิตร

t = ระยะทางที่แสงผ่านมีหน่วยเป็นเซนติเมตร

$$\%T = I_t/I_o \times 100$$

ถ้าแทนค่าในสมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง A และ T (สมการที่ 3) จะพบว่า 100% T = 0 A 10% T = 1.0 A, 1.0% T = 2.0 A, 0.1% T = 3.0 A และ 0% T = ∞ A ดังนั้น % T จึงมีค่าตั้งแต่ 0-100 ส่วน A มีค่าตั้งแต่ 0 ถึงค่าอนันต์ (infinity)

เมื่อลากเส้นหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นและค่าการดูดกลืนแสง พบว่ามีความสัมพันธ์กันเป็นเส้นตรง แต่ความเข้มข้นจะมีความสัมพันธ์กับค่าแสงส่องผ่านเป็นเส้นโค้งเอ็กซ์โพเนนเชียล (exponential) บนกระดาษกราฟธรรมดา แต่จะเป็นเส้นตรงถ้าใช้กระดาษเซมิล็อก (semilog paper) ในทางปฏิบัติจึงนิยมวัดค่าการดูดกลืนแสงเพราะมีความสะดวกในการอ่านค่าหรือคำนวณค่ามากกว่า แต่อย่างไรก็ตามถ้าพบว่าแสงตกกระทบเป็นแสงหลายสี (polychromatic light) ความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงจะลดลง เมื่อเปรียบกับการใช้แสงสีเดียว (monochromatic light)

2.4.2 การวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Quantitative analysis) [12]

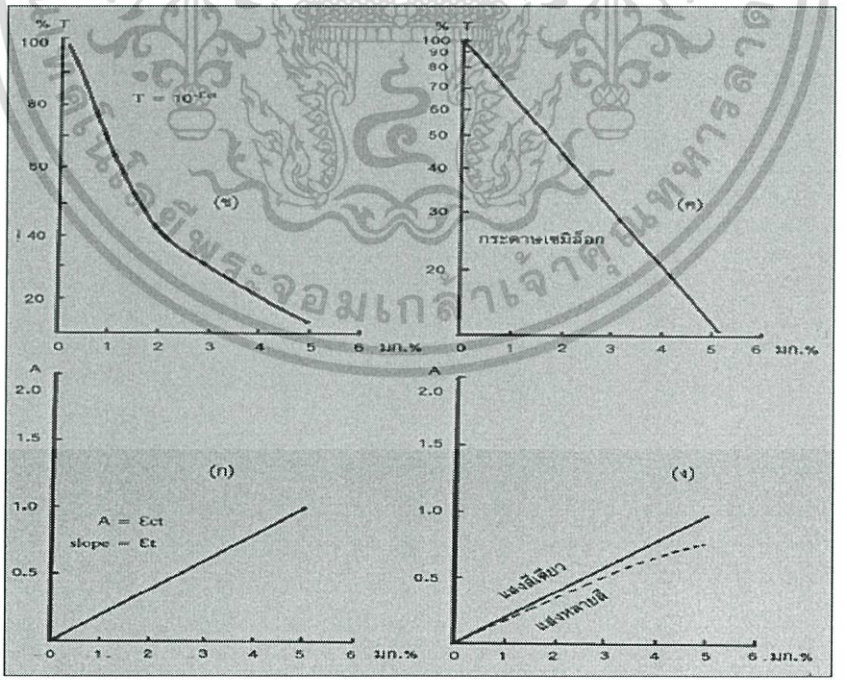
การวัดค่าการดูดกลืนแสงเพื่อนำค่ามาคำนวณหาปริมาณสารนิยมวัดอยู่ 2 วิธี คือ

1) การวัดค่าการดูดกลืนแสงสมบูรณ์ (absolute absorbance) เป็นการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารเมื่อเทียบกับอากาศ หรือน้ำกลั่นในคิวเวทท์ ที่มีความกว้าง 1 เซนติเมตร หลังจากนั้นหารค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ด้วย ε จะได้ค่าความเข้มข้นของสาร($A=\varepsilon ct$) การวิเคราะห์โดยวิธีนี้ถือว่าค่า ε

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีค่าคงที่ แต่ในทางปฏิบัติค่า ε มักจะแตกต่างไปจากที่กำหนดไว้เป็นค่ามาตรฐาน เพราะค่า ε ขึ้นอยู่กับคุณภาพของเครื่องวัดการดูดกลืนแสง ตัวอย่างเช่นความถูกต้องของการวัดความเข้มของแสง (photometric accuracy) แสงรบกวนจากเครื่องมือ นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับคุณภาพของคิวเวทท์ที่ใช้ด้วย เพื่อให้การวิเคราะห์หาปริมาณสารมีความถูกต้องมากที่สุดจึงควรหาค่า ε สำหรับเครื่องวัดการดูดกลืนแสงนั้นๆ โดยวัดจากสารมาตรฐานที่บริสุทธิ์ที่ความเข้มข้นต่างๆ

2) การวัดค่าการดูดกลืนแสงสัมพัทธ์ (relative absorbance) เป็นการวัดค่าการดูดกลืนแสงเปรียบเทียบกันระหว่างสารละลายมาตรฐานที่ทราบค่า (standard solution) กับสารละลายที่ต้องการหาปริมาณ วิธีนี้นิยมใช้มากเนื่องจากลดความผิดพลาดจากความคลาดเคลื่อนของเครื่องวัดการดูดกลืนแสง คุณภาพคิวเวทท์ ตลอดจนเทคนิคที่ใช้ได้ เพราะใช้เทคนิค อุปกรณ์และเครื่องมืออันเดียวกัน การวัดค่าการดูดกลืนแสงอาจแบ่งตามปฏิกิริยาเคมีได้ 2 รูปแบบคือ 1. แบบปฏิกิริยาสมดุล (equilibrium reaction) เป็นการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงเมื่อปฏิกิริยาเคมีสมดุล หรือถึงจุดหยุดปฏิกิริยา สารละลายจะดูดกลืนแสงคงที่ที่จุดนี้ แต่ปฏิกิริยาส่วนใหญ่จะใช้เวลานานในการเกิดสมดุล 2. แบบปฏิกิริยาจลน์ (kinetic reaction) เป็นการวัดค่าการดูดกลืนแสงในขณะที่ปฏิกิริยายังไม่หยุดนิ่ง ค่าการดูดกลืนแสงมีการเปลี่ยนแปลงได้ในลักษณะที่เพิ่มขึ้นหรือลดลง คำนวณหาปริมาณสารได้จากค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลงต่อหน่วยเวลา แต่เนื่องจากช่วงเวลามักจะเป็นช่วงสั้นๆ เป็นวินาที การวัดแบบนี้จึงควรใช้เครื่องวัดการดูดกลืนแสงที่มีระบบวัดค่าการดูดกลืนแสงต่อหน่วยเวลาแบบอัตโนมัติ



รูปที่ 2.9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับค่าการดูดกลืนแสง (ก,ง) และค่าแสงส่องผ่าน (ข,ค) [12]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยทั่วไปจะวัดการดูดกลืนแสงที่ช่วงความยาวคลื่นเดียว แต่ในระยะหลัง นิยมวัดหลายความยาวคลื่น (multi wavelength measurement) เพื่อลดการรบกวนจากสารอื่น ๆ ที่ไม่ต้องการวัด ตัวอย่างเช่น ระบบการวัด 2 ความยาวคลื่น (bichromatic measurement system) ใช้ความยาวคลื่นอันแรกสำหรับวัดค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารที่ต้องการวิเคราะห์ และใช้ความยาวคลื่นอันที่สองสำหรับวัดการดูดกลืนแสงของสารรบกวนที่ปนอยู่ในสารตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์ หลังจากนั้นจึงนำค่าการดูดกลืนแสงของสารรบกวนมาลบออกจากค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง ซึ่งจะทำให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงเฉพาะที่เกิดจากสารที่ต้องการวิเคราะห์ หรือในระบบการวัด 3 ความยาวคลื่น (trichromatic measurement system) จะเพิ่มความยาวคลื่นอันที่ 3 มาวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารรบกวนตัวที่ 2 หลังจากนั้นจึงหาค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงของความยาวคลื่นอันที่ 2 และอันที่ 3 ก่อนนำไปลบออกจากค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง ฯลฯ

2.4.3 ส่วนประกอบของเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ [13]

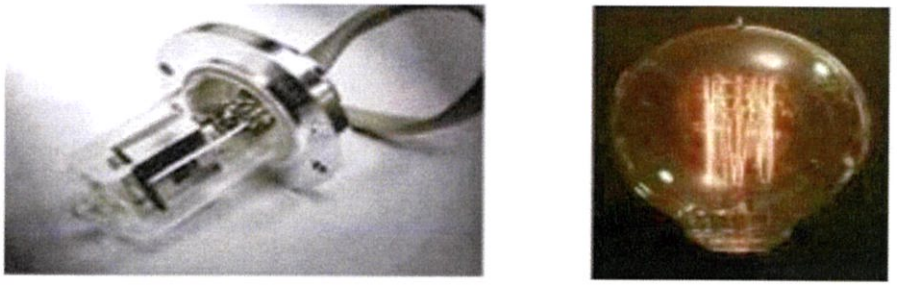
ส่วนประกอบหลักของเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ มีอยู่ 5 ส่วนด้วยกันดังนี้คือ 1. แหล่งกำเนิดแสง (light source) 2. ส่วนเลือกความยาวคลื่น (wavelength selector) 3. ภาชนะใส่สาร (cell หรือ cuvette) 4. ตัวตรวจจับสัญญาณ (detector) 5. ส่วนบันทึกและแปรผลสัญญาณ (recorder and processor)โดยมีการจัดเรียงส่วนประกอบทั้งหมด ดังรูป 2.10

รูปที่ 2.10 ส่วนประกอบของเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ [13]

1) แหล่งกำเนิดแสง (light source)

แหล่งกำเนิดแสงในเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์จะต้องให้รังสีในช่วงความยาวคลื่นที่ต้องการอย่างต่อเนื่องและคงที่ตลอดเวลา รวมทั้งมีความเข้มแสงที่มากพอด้วย สำหรับความยาวคลื่นในช่วงอัลตราไวโอเลตจะใช้หลอดดิวเทอเรียม (deuterium lamp) เป็นแหล่งกำเนิดแสง ซึ่งให้แสงในช่วง 185-375 nm หลักการคือทำให้อะตอมดิวเทอเรียมที่อยู่ในสภาวะเร้าคายพลังงานออกมา ส่วนหลอดทังสเตน (tungsten filament lamp) จะให้ความยาวคลื่นครอบคลุมช่วงแสงที่มองเห็นได้ คือตั้งแต่ 320-2500 nm หลักการจะคล้ายกับหลอดไฟทังสเตนแบบธรรมดา คือให้กระแสไฟฟ้าผ่านเข้าไปจนกระทั่งลวดทังสเตนร้อนและเปล่งรังสีออกมา โดยปกติจะเปิดเครื่องทิ้งไว้ก่อนใช้งานประมาณ 30 นาที เพื่อให้แน่ใจว่าหลอดดิวเทอเรียมหรือหลอดทังสเตนให้แสงที่มีความเข้มสม่ำเสมอ

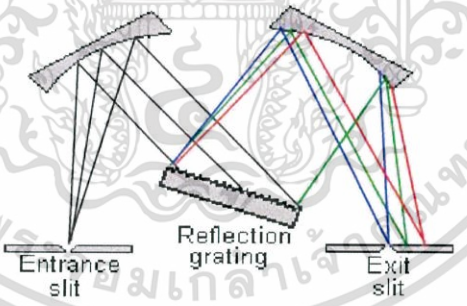
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.11 หลอดดิวเทอเรียม (ซ้าย) และหลอดทังสเตน (ขวา) [13]

2) ส่วนเลือกความยาวคลื่น (wavelength selector)

เป็นส่วนที่ใช้แยกความยาวคลื่นที่ออกมาจากแหล่งกำเนิดแสง ซึ่งเป็นแสงที่มีหลายๆ ความยาวคลื่น (polychromatic wavelength) ให้เป็นแถบแสงในช่วงแคบๆ หรือ เป็นความยาวคลื่นเดี่ยว (monochromatic wavelength) เครื่องมือสมัยก่อนจะใช้ปริซึมหรือ ฟิลเตอร์สำหรับแยกความยาวคลื่น แต่ปัจจุบันเปลี่ยนมาใช้โมโนโครเมเตอร์ (monochromater) แบบเกรตติ้ง (grating) สะท้อนแสงซึ่งมีลักษณะเป็นร่องเล็กๆ ขนานกันจำนวนมาก แสงจากแหล่งกำเนิดแสงจะตกกระทบลงบนผิวหน้าของร่อง แล้วสะท้อนออกมาที่มุมต่างๆ เฉพาะความยาวคลื่นที่เราเลือกเท่านั้นจึงจะผ่าน ช่องแสงออก (exit slit) ไปสู่สารตัวอย่าง รูปที่ 2.12 เราต้องการแสงสีน้ำเงิน ดังนั้นเฉพาะแสงสีน้ำเงินเท่านั้นที่สะท้อนผ่านเกรตติ้งออกมา



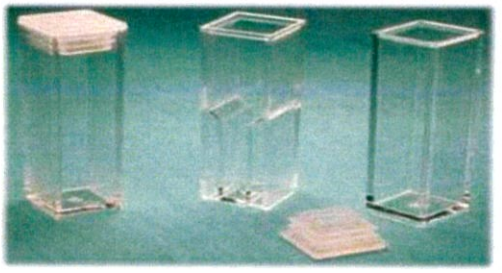
รูปที่ 2.12 เกรตติ้งใช้แยกความยาวคลื่นที่ต้องการ [13]

3) ภาชนะใส่สารตัวอย่าง (cell หรือ cuvette)

ภาชนะใส่สารตัวอย่างสำหรับสเปกโทรโฟโตมิเตอร์จะเรียกว่า เซลล์หรือคิวเวทท์ (cuvette) มีหลายแบบหลายขนาดด้วยกันขึ้นกับการใช้งาน หลักสำคัญในการเลือกใช้ก็คือ การวัดในช่วงแสงอัลตราไวโอเลต จะต้องใช้เซลล์ที่ทำจากควอตซ์ (quartz) เท่านั้น เนื่องจากแก้วสามารถดูดกลืนแสงในช่วงอัลตราไวโอเลตได้ ส่วนเซลล์ที่ทำจากแก้วจะใช้วัดในช่วงแสงที่มองเห็นได้ นั่นหมายความว่าถ้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เราต้องการวัดสารในช่วงแสงที่มองเห็นได้ก็ควรจะใช้เซลล์ที่ทำจากแก้ว การใช้เซลล์ควอตซ์ไม่ได้มีผลให้การวัดแสงดีขึ้น แต่จะสิ้นเปลืองเปล่า ประโยชน์เพราะควอตซ์ราคาแพง กว่าแก้วมาก



รูปที่ 2.13 ตัวอย่าง cuvettes แบบต่างๆ [13]

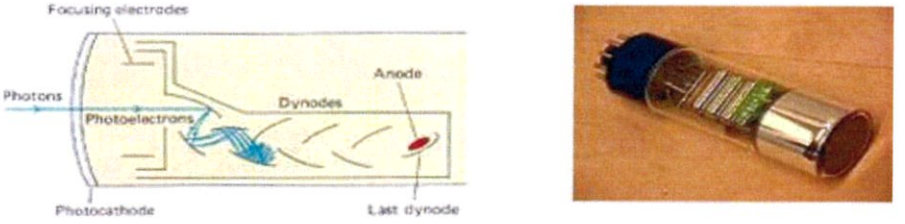
นอกจากนี้การวิเคราะห์โดยใช้ spectrophotometric detection ถ้างานวิเคราะห์นั้นมีความไว (sensitivity) ต่ำ เราสามารถเพิ่มความไวให้สูงขึ้นได้ง่ายๆ โดยใช้เซลล์ที่มีความกว้างมากขึ้น เพราะจากกฎของเบียร์-แลมเบิร์ต ค่าการดูดกลืนแสงของสารยังขึ้นกับความหนาของตัวกลางที่แสงเดินทางผ่าน (l) ดังสมการ $A=\varepsilon cl$ ซึ่งเซลล์ที่ใช้ในงานทั่วไปมีความกว้างตั้งแต่ 1-10 cm หรือถ้าสารมีราคาแพงและปริมาณน้อย ก็มีเซลล์ขนาดเล็กที่ปริมาตรต่ำกว่า 1 mL ส่วนการทำความสะอาดเซลล์เพียงแค่กลั้วด้วยน้ำกลั่นหรือกลั้วด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมตามด้วยน้ำกลั่นก็เพียงพอ ห้ามขัดถูเพราะจะทำให้เซลล์มีรอยขีดข่วน

4) ตัวตรวจจับสัญญาณ (detector)

เครื่องตรวจจับสัญญาณที่ดีต้องมีสภาพไวสูง คือแม้ปริมาณแสงจะเปลี่ยนไปเล็กน้อย ก็สามารถตรวจจับสัญญาณความแตกต่างได้ ปัจจุบันเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ส่วนใหญ่ นิยมใช้ตัวตรวจจับสัญญาณ 2 ชนิดคือ

1. หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ (photomultiplier tube; PMT) หลอด PMT ประกอบไปด้วยแคโทด (cathode) ที่ฉาบผิวด้วยสารที่สามารถให้อิเล็กตรอนได้เมื่อถูกแสงจำนวน 9 ชุด เรียกว่าไดโนด (dynode) แต่ละไดโนดจะมีศักย์ไฟฟ้าสูงขึ้นเรื่อยๆ เมื่อแสงตกกระทบกับไดโนดตัวที่หนึ่งสารที่ฉาบผิวจะเกิดอิเล็กตรอนขึ้น แล้ววิ่งไปกระทบไดโนดที่สอง สาม สี่ จนครบทั้งเก้าตัว

ดังนั้นปริมาณอิเล็กตรอนจะเพิ่มขึ้นมากถึง 106-107 เท่า แล้วจึงชนแอโนดให้กระแสไฟฟ้าออกมาเข้าเครื่องขยายสัญญาณต่อไป

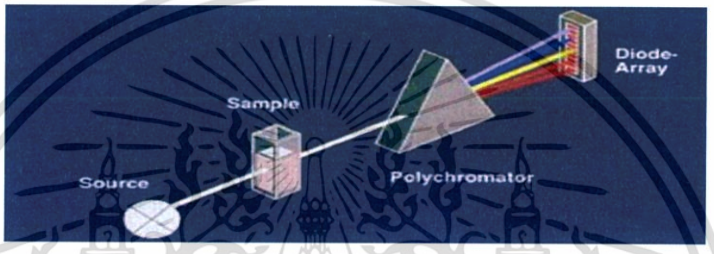


รูปที่ 2.14 (ซ้าย)ภาพตัดขวางของหลอด PMT (ขวา) ลักษณะหลอด PMT [13]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. โฟโตไดโอดอาร์เรย์ (photodiode arrays; PDA)

ตัวตรวจจับสัญญาณชนิดนี้สามารถจับสัญญาณได้ครอบคลุมทั้งสเปกตรัมโดยใช้ไดโอดนี้ มาเรียงต่อกันเป็นแถว ซึ่งสามารถวัดครอบคลุมสเปกตรัมได้ตั้งแต่ 200-1100 nm ตัวตรวจจับสัญญาณนี้ประกอบไปด้วยโฟโตไดโอดและตัวเก็บประจุ (capacitor) ประมาณ 200-4000 ตัวเรียงต่อกันเป็นแถว หลักการเริ่มต้นด้วยการให้ประจุผ่านผิวหน้าไดโอด ซึ่งไดโอดก็จะเก็บประจุไว้ที่ตัวเก็บประจุ เมื่อแสงตกลงบนไดโอดจะทำให้เกิดประจุไฟฟ้าไปทำลายประจุที่เก็บไว้ที่ตัวเก็บประจุ ทำให้ต้องใส่ประจุเพิ่มเข้าไปใหม่ซึ่งเป็นช่วงของการสแกนแต่ละครั้งนั่นเอง ปริมาณของประจุที่ต้องใส่เข้าไปใหม่จะเป็นปฏิภาคโดยตรงกับความเข้มแสงที่วัดได้ของแต่ละไดโอด ดังนั้นจากการวัดปริมาณแสงที่แตกต่างกันตลอดช่วงความยาวคลื่นจะได้เป็นสเปกตรัมการดูดกลืนของสารนั้นออกมา



รูปที่ 2.15 สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่มีไดโอดอาร์เรย์เป็นตัวตรวจจับสัญญาณ [13]

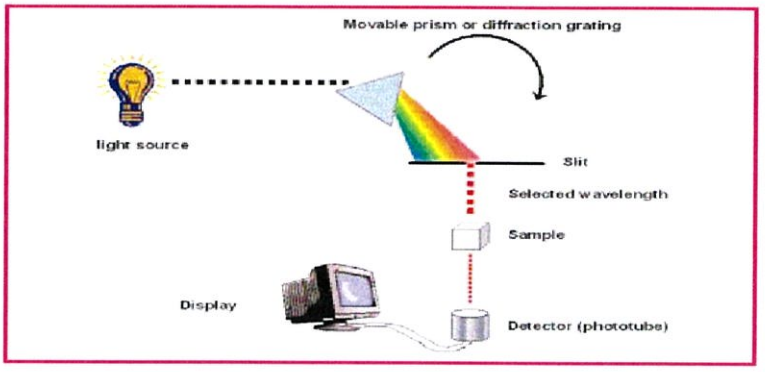
5) ส่วนบันทึกและแปรผลสัญญาณ (recorder and processor)

ทำหน้าที่ขยายสัญญาณ และแปรผลสัญญาณให้ออกมาในมาตราส่วนแบบล็อก (log scale)

2.4.4 รูปแบบของเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (types of Spectrophotometer) [13]

1) สเปกโทรโฟโตมิเตอร์แบบลำแสงเดี่ยว (single beam spectrophotometer) หลักการของสเปกโทรโฟโตมิเตอร์แบบลำแสงเดี่ยวนั้น เมื่อแสงออกจากแหล่งกำเนิดแสงแล้ว จะผ่านโมโนโครเมเตอร์ที่เป็นเกรตติ้ง และสารตัวอย่างตามลำดับ แล้วจึงเข้าสู่ตัวตรวจจับสัญญาณ ตลอดเส้นทางของลำแสงนี้มีลำแสงเดียว จึงเรียก สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ประเภทนี้ว่าแบบลำแสงเดี่ยว เนื่องจากสเปกโทรโฟโต มิเตอร์ประเภทนี้ใช้ลำแสงเพียงลำเดียวผ่านจากโมโนโครเมเตอร์ไปสู่สารละลายที่ต้องการวัดและเข้าสู่ตัวตรวจจับสัญญาณเลย ดังนั้นการวัดจึงต้องวัด 2 ครั้งดังนี้ ครั้งแรกเซลล์บรรจุแบลงค์ (blank) ซึ่งเป็นตัวทำละลายของตัวอย่างที่เราต้องการวัด เมื่อลำแสงผ่านเซลล์ปรับเครื่องให้อยู่ในตำแหน่ง “ศูนย์” (set zero) ส่วนครั้งหลังบรรจุสารละลายที่ต้องการตรวจวัด (sample) แล้วจึงให้ลำแสงผ่านเซลล์ ความแตกต่างระหว่างการดูดกลืนแสงของทั้ง 2 ครั้งจะปรากฏบนหน้าปัดมิเตอร์จากนั้นก็สามารถวัดตัวอย่างที่ความเข้มข้นอื่นๆ ต่อไปได้เลย โดยไม่ต้องกลับไปวัดแบลงค์อีก การเปลี่ยนความยาวคลื่น จะต้องวัดแบลงค์ใหม่ทุกครั้ง

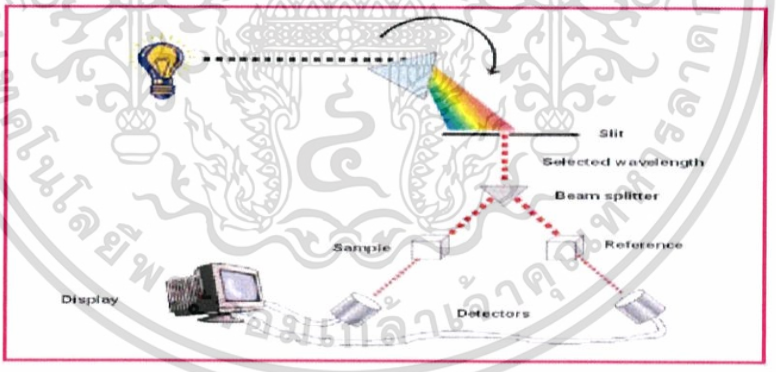
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.16 สเปกโทรโฟโตมิเตอร์แบบลำแสงเดี่ยว [13]

2) สเปกโทรโฟโตมิเตอร์แบบลำแสงคู่ (double beam spectrophotometer)

สำหรับสเปกโทรโฟโตมิเตอร์แบบลำแสงคู่ เมื่อลำแสงจากแหล่งกำเนิดแสงออกจากช่องแสงออก (exit slit) แล้ว ลำแสงจะไปสู่อุปกรณ์ตัดลำแสง (beam chopper) ซึ่งจะทำหน้าที่สะท้อนลำแสงไปผ่านสารตัวอย่าง (sample) ในขณะต่อมาจะสะท้อนลำแสงไปผ่านสารอ้างอิง (reference) ซึ่งก็คือแบลงค์นั่นเอง โดยที่ลำแสงทั้งสองจะมีความเข้มแสงเท่ากันก่อนที่จะผ่านสารตัวอย่างหรือสารอ้างอิง เมื่อลำแสงทั้งสองนี้ไปตกกระทบบนตัวตรวจจับสัญญาณ ความแตกต่างของความเข้มแสงหลังจากผ่านสารตัวอย่างหรือสารอ้างอิงจะกลายเป็นค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง



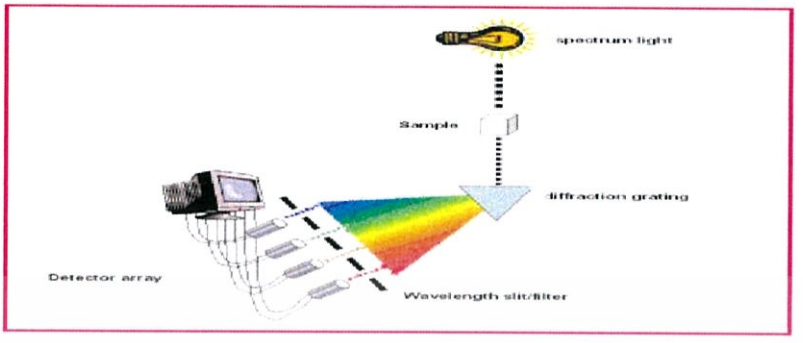
รูปที่ 2.17 สเปกโทรโฟโตมิเตอร์แบบลำแสงคู่ [13]

3) สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่มีไดโอดอาร์เรย์เป็นตัวตรวจจับสัญญาณ (spectrophotometer แบบ diode array detector)

diode array detector เป็นการตรวจจับสัญญาณ โดยวัดการดูดกลืนของแสงเช่นเดียวกับสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ทั่วไป เพียงแต่การเก็บข้อมูลมิใช่การเก็บเพียง 1 หรือ 2 ความยาวคลื่นเท่านั้น แต่สามารถเก็บข้อมูลได้เป็นช่วงของความยาวคลื่น ที่ผู้วิเคราะห์สามารถเลือกได้ โดยใช้เวลาเพียงนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เดียว เนื่องจากสามารถวัดทุก ความยาวคลื่นได้ในเวลาเดียวกัน เหมาะสำหรับการเก็บข้อมูลที่เป็นสเปกตรัม หรือต้องการติดตามการเปลี่ยนแปลงการดูดกลืนของสารที่หลายความยาวคลื่น



รูปที่ 2.18 สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่มีไดโอดอาร์เรย์เป็นตัวตรวจจับสัญญาณ [13]

2.4.5 วิธีใช้เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (application) [13]

เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์แต่ละแบบอาจมีเทคนิคการใช้และวิธีการใช้แตกต่างกันบ้าง ซึ่งผู้ใช้ต้องศึกษาคู่มือการใช้งานโดยละเอียดก่อน สำหรับวิธีใช้เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์โดยทั่วไปมีดังนี้

1. ถอดถุงคลุมเครื่องออก
2. เปิดสวิทซ์ไฟฟ้าเพื่ออุ่นเครื่องนาน 30 นาที
3. ปิดแสงจากภายในหรือภายนอกไม่ให้ตกกระทบตัวไวแสง โดยการปิดฝาครอบที่ช่องใส่คิวเวทท์และปิดช่องแสงออก
4. เลือกความยาวคลื่นแสงที่ต้องการวัดโดยปรับปุ่มเลือกความยาวคลื่น
5. ปรับเครื่องเป็น 100%T หรือตั้งค่าการดูดกลืนแสง ให้เป็นศูนย์ด้วยปุ่มปรับศูนย์
6. ใส่สารละลายอ้างอิง (reagent blank) ลงในช่องใส่คิวเวทท์ ปิดฝาช่องใส่คิวเวทท์
7. ทำการปรับ 100%T หรือค่าการดูดกลืนให้เป็นศูนย์ด้วยปุ่มปรับศูนย์การปรับในขั้นตอนนี้ต้องกระทำทุกครั้งที่มีการเปลี่ยนความยาวคลื่นแสงที่ใช้วัด
8. ใส่สารตัวอย่างลงในช่องใส่คิวเวทท์ ปิดฝาช่องใส่คิวเวทท์
9. อ่านค่า %T หรือ absorbance
10. หลังเสร็จจากการใช้งาน ทำการปิดสวิทซ์ไฟฟ้า และปล่อยให้เครื่องเย็นลงก่อนที่จะคลุมเครื่องด้วยถุงคลุมเครื่องมือ

2.4.7 การเบี่ยงเบน [13]

1. การเบี่ยงเบนทางเคมี (chemical deviation)

การเบี่ยงเบนทางเคมี (chemical deviation) เกิดจากสารที่ต้องการวิเคราะห์เกิดการสลายตัว การรวมตัว หรือทำปฏิกิริยากับตัวทำละลาย แล้วกลายเป็นสารตัวอื่นที่ให้ absorption

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

spectrum ต่างจากสารที่ต้องการจะวิเคราะห์ ทำให้ผลเบี่ยงเบนออกจากกฎของเบียร์ ยกตัวอย่าง เช่น การรวมตัวกันของโมเลกุล ทำให้การดูดกลืนแสงต่อโมเลกุลลดลง ดังนั้นจึงเกิดการเบี่ยงเบนเชิงลบ

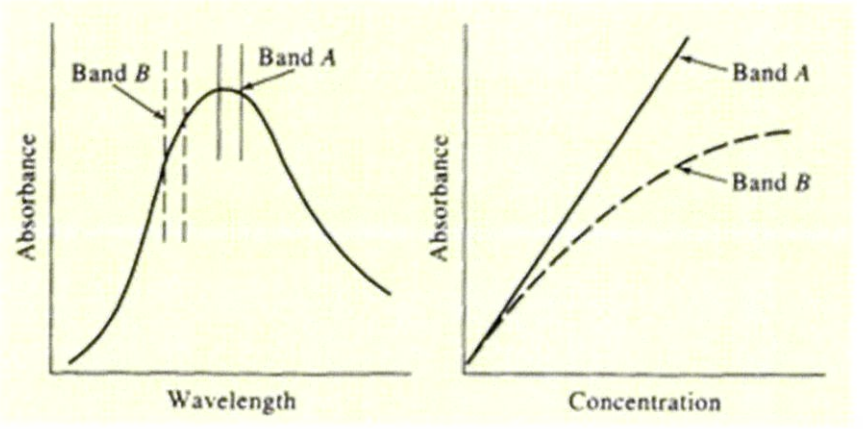
2. การเบี่ยงเบนจากเครื่องมือ (instrumental deviation) เกิดจาก

1) ความไม่แม่นยำของเครื่องมือวัด ในทางปฏิบัติพบว่าการวัดค่าการดูดกลืนของสารให้มีค่าอยู่ในช่วง A = 0.1-1.0 จะมีค่าความคลาดเคลื่อนของการวัดความเข้มข้นน้อยมากประมาณ 1-2% ดังนั้นในปฏิบัติการจริงจะมีการปรับความเข้มข้นของสารละลายให้อยู่ในช่วง A = 0.1-1.0 ถ้าค่าการดูดกลืน อยู่ในช่วงที่มากกว่า หรือน้อยกว่านี้แสงที่ผ่านออกมายังเครื่องตรวจวัดจะน้อยหรือมากเกินไป ดังนั้นความคลาดเคลื่อนจึงมีสูง

รูปที่ 2.19 เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นที่คลาดเคลื่อน อันเนื่องมาจากความคลาดเคลื่อนในการอ่านค่าการดูดกลืนของเครื่องมือ [13]

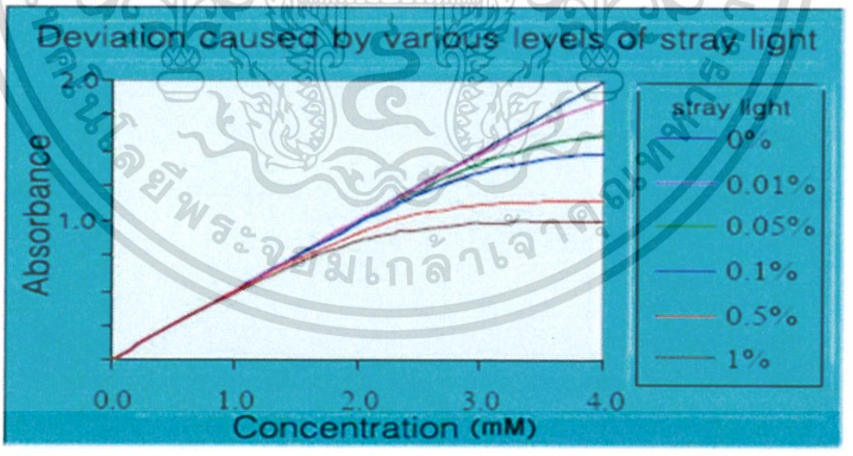
2) แสงที่มีหลายความยาวคลื่น (polychromatic light) จากกฎของเบียร์อนุมานว่าความยาวคลื่นที่ผ่านสารละลายเป็นความยาวคลื่นเดี่ยว แต่ในทางปฏิบัติ ตัวแยกความยาวคลื่น (monochromator) อาจจะแยกความยาวคลื่นให้เป็นคลื่นเดี่ยวไม่ได้ มีความยาวคลื่นอื่นปนมาด้วย ดังนั้นการวัดค่าการดูดกลืน อาจคลาดเคลื่อนได้ ถ้าความยาวคลื่นอื่นที่ปนมามีค่า molar ของสารเปลี่ยนแปลงไปจากความยาวคลื่นที่เราเลือกมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.20 ผลของแสงที่มีหลายความยาวคลื่นต่อการเบี่ยงเบนจากกฎของเบียร์ [13]
แถบ A เป็นไปตามกฎของเบียร์ เพราะ เปลี่ยนแปลงไม่มาก
แถบ B ไม่เป็นไปตามกฎของเบียร์ เพราะ เปลี่ยนแปลงอย่างมาก

3) คลื่นแสงรบกวน (stray light) คือการรบกวนของความยาวคลื่นที่เราไม่ได้เลือกผ่านเข้าไปตกกระทบบนตัวตรวจจับสัญญาณ (detector) อาจเกิดจากการกระเจิงแสง (scattering) หรือการสะท้อน (reflection) หลายๆ ครั้งบนผิวของเกรตติ้งเลนส์ หรือฟิลเตอร์ เป็นต้น ผลของแสงรบกวนทำให้ค่าการดูดกลืนลดลง โดยเฉพาะที่ความเข้มข้นสูงๆ ถ้าค่าการดูดกลืนมีค่ามาก แสงที่ผ่านออกมาตกบนตัววัดมีน้อย ดังนั้นแสงรบกวนจึงส่งผลได้มากขึ้น ทำให้ได้กราฟที่ไม่เป็นเส้นตรง



รูปที่ 2.21 อิทธิพลของคลื่นแสงรบกวน (stray light) [13]

ยกตัวอย่างเช่น สมมติว่าเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์เครื่องหนึ่ง จะมีผลของแสงรบกวน 1% ของทุกๆครั้งที่ทำการวัด จากตารางเปรียบเทียบปริมาณของแสงรบกวนกับค่าการดูดกลืนแสงต่างๆ พบว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 เปรียบเทียบปริมาณของแสงรบกวนกับค่าการดูดกลืนแสงต่างๆ [13]

absorbance	%T	%stray light	ratio of %(stray light / T)
0	100	1	1/100
1	10	1	1/10
2	1	1	1/1

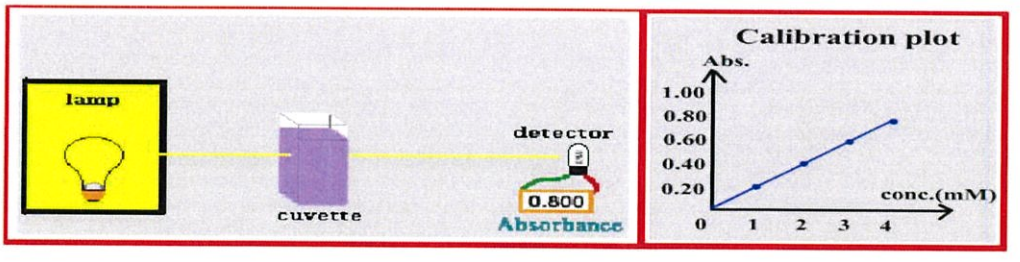
ถ้าค่าการดูดกลืนแสงยังมีค่าน้อยหรือแสงที่ผ่านออกมา (%T) ยังมีค่ามากผลของแสงรบกวนจะถือว่ารบกวนน้อย เช่นแสงรบกวน 1% มีค่าน้อยมากเมื่อเทียบกับแสง 100%T (แสงรบกวนคิดเป็น 0.01%ของค่า%T) แต่เมื่อไรก็ตามที่ค่าการดูดกลืนมีค่ามากจนกระทั่งแสงที่ผ่านออกมาเหลือน้อยมาก เช่น แสงผ่านออกมาเพียง 1%T ดังนั้นแสงรบกวนซึ่งมี 1% จะมีค่าเท่ากันกับแสง %T เลยทีเดียวหรือแสงรบกวนคิดเป็น 50 % ของแสง %T

2.5 กราฟความเข้มข้นมาตรฐาน (calibration curve) [13]

ค่าการดูดกลืนแสงของสารมีความสัมพันธ์กับค่าความเข้มข้นของสารหรือปริมาณของเนื้อสารนั้นตามกฎของเบียร์และแลมเบิร์ต ดังนั้นถ้านำความสัมพันธ์นี้มาสร้างกราฟและได้ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง จะเรียกกราฟนี้ว่า กราฟความเข้มข้นมาตรฐาน (calibration curve)

กราฟความเข้มข้นมาตรฐานนี้มีประโยชน์มากในเชิงปริมาณวิเคราะห์ เพราะสามารถใช้เทียบเพื่อหาความเข้มข้นของสารที่ไม่ทราบค่าได้ โดยที่สารที่ไม่ทราบค่าความเข้มข้นนั้นจะต้องอยู่ในช่วงความเข้มข้นมาตรฐานที่ทราบค่าแล้ว และเส้นกราฟความเข้มข้นมาตรฐานจะต้องเป็นเส้นตรงเสมอ

วิธีการสร้างกราฟความเข้มข้นมาตรฐาน คือ นำสารละลายมาตรฐาน (standard solution) ที่ทราบค่าความเข้มข้นที่แน่นอนอย่างน้อย 3-4 ความเข้มข้น มาวัดค่าการดูดกลืนแสง จากนั้นก็นำความสัมพันธ์ที่ได้ไปสร้างกราฟ ส่วนความเข้มข้นที่ไม่ทราบค่าก็นำไปวัดค่าการดูดกลืนเช่นเดียวกัน แล้วนำค่าการดูดกลืนนั้นไปเทียบกับกราฟความเข้มข้นมาตรฐานหรือคำนวณจากสมการเชิงเส้นของกราฟความเข้มข้นมาตรฐานเพื่อย้อนกลับมาเป็นความเข้มข้น เราก็จะทราบค่าความเข้มข้นของสารนั้นได้ รูปที่ 2.22 แสดงการวัดค่าการดูดกลืนแสงเพื่อนำมาสร้างกราฟความเข้มข้นมาตรฐาน



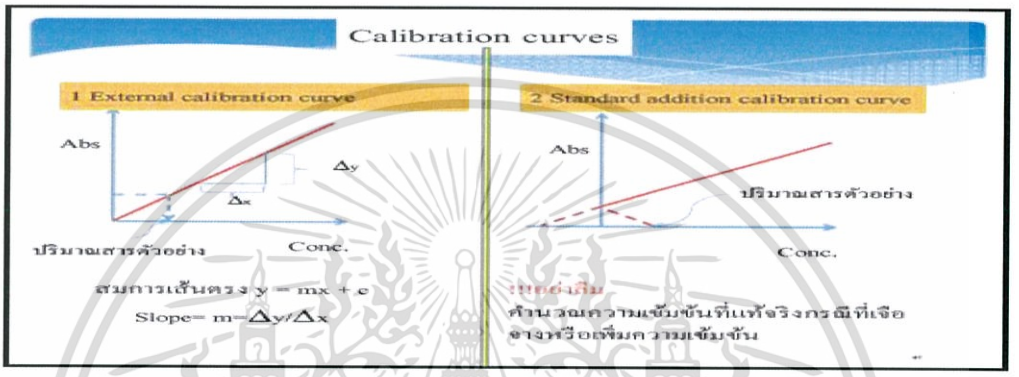
รูปที่ 2.22 แสดงการวัดค่าการดูดกลืนแสงเพื่อนำมาสร้างกราฟความเข้มข้นมาตรฐาน [13]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.1 วิธีหาปริมาณสารโดยการทำ calibration curve [14]

1) วิธีสารมาตรฐานภายนอก External standard method

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานหลายๆ ความเข้มข้น วัดค่าการดูดกลืนแสง และสร้างกราฟมาตรฐาน (calibration graph)
2. วิเคราะห์สารตัวอย่างแบบเดียวกันกับสารมาตรฐาน และนำค่าการดูดกลืนของสารตัวอย่างไปเทียบกับ calibration graph เพื่อหาความเข้มข้นของสารตัวอย่างโดยตรง
3. คำนวณหาความเข้มข้นที่แท้จริง (ในกรณีที่เกิดการเจือจาง หรือเพิ่มความเข้มข้น)



รูปที่ 2.23 กราฟมาตรฐาน [14]

2) วิธีเติมมาตรฐาน (standard addition method)

1. เติมสารมาตรฐานที่มีปริมาณต่างๆ กัน ลงไปในสารตัวอย่าง
2. วัดค่า Abs และสร้างกราฟมาตรฐาน (calibration graph)
3. จากกราฟมาตรฐาน หาจุดตัดแกน x คือปริมาณสารตัวอย่าง
4. คำนวณหาความเข้มข้นที่แท้จริง (ในกรณีที่เกิดการเจือจาง หรือเพิ่มความเข้มข้น)

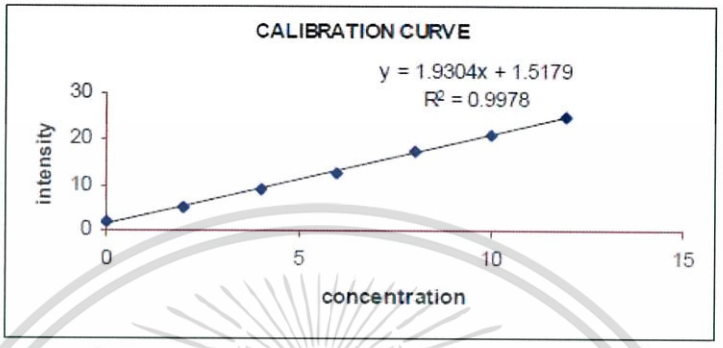
2.6 ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) [15,16]

ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงหรือช่วงความเป็นเส้นตรงเป็นคุณลักษณะเฉพาะของวิธีทดสอบที่แสดงความสัมพันธ์อย่างเป็นสัดส่วนโดยตรง ระหว่างปริมาณที่ทราบค่ากับปริมาณจากการวัดทดสอบ จำเป็นต้องตรวจสอบสาหรับวิธีที่ มีช่วงการทดสอบ หรือมีช่วงการใช้งานที่กว้าง การตรวจสอบความความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงทาได้ 2 กรณี คือ

1) ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของเครื่องมือ เป็นคุณลักษณะที่แสดงความสมพันธ์อย่างเป็นสัดส่วนโดยตรง ระหว่างสัญญาณจากเครื่องมือวัด (response) และความเข้มข้นของสาร ในช่วงของการใช้งาน โดยใช้กราฟมาตรฐาน (calibration curve) โดยตามทฤษฎีแล้วความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกับสัญญาณจากเครื่องมือเป็นเส้นตรง ในการหาปริมาณความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของเครื่องมือเกี่ยวข้องกับสภาพไว และบางกรณีเกี่ยวข้องกับ matrix effect ด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) ความสัมพันธ์เชิงเส้นของวิธี ทดสอบ เป็นความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของสารมาตรฐานที่วัดกับปริมาณที่วัดได้ ทดสอบโดยใช้วัสดุอ้างอิงรับรองหรือวัสดุอ้างอิงที่มีเนื้อสารเดียวกันหรือใกล้เคียงกับตัวอย่างความสัมพันธ์เชิงเส้นไม่ใช้คุณสมบัติเชิงปริมาณ หากการตรวจสอบพบว่าความสัมพันธ์ไม่เป็นเส้นตรง อาจสามารถแก้ไขได้ด้วยการใช้สมการอื่น หรือกำหนดช่วงให้แคบลงที่มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง



รูปที่ 2.24 สมการและกราฟมาตรฐาน [16]

ความสัมพันธ์เชิงเส้นเป็นความสัมพันธ์ของตัวแปร 2 ตัวแปร คือตัวแปรที่ทราบปริมาณ กับตัวแปรที่ได้จากการวัด ที่มีความสัมพันธ์เป็นสัดส่วนกัน แสดงด้วย สมการ หรือ กราฟเส้นตรง ดังแสดงในภาพ ในการหาความสัมพันธ์เชิงเส้น ต้องมีการยืนยันว่า สมการหรือกราฟมาตรฐาน (calibration curve) ดังกล่าวมีความถูกต้อง น่าเชื่อถือ โดยหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ค่า r ควรเข้าใกล้ 1 หรือค่า สัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) ไม่น้อยกว่า 0.995 และ การทำ residual plot ควรได้การกระจายของข้อมูลแบบสุ่ม

การวิเคราะห์ทดสอบทางห้องปฏิบัติการ ใช้ประโยชน์จากความสัมพันธ์เชิงเส้น ในการหาปริมาณของตัวแปรหนึ่ง เมื่อทราบค่าของอีกตัวแปรหนึ่งที่ได้จากการวัด หรือจากการกำหนด โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน หรือคำนวณจากสมการเส้นตรง เช่น การวิเคราะห์หาปริมาณสารในตัวอย่าง ที่วัดโดยเครื่องมือ สัญญาณที่วัดจากเครื่องมือ คำนวณเป็นปริมาณสารโดย เทียบกับกราฟมาตรฐาน

การหาความเที่ยงของการวัด ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ครอบคลุมช่วงการใช้งาน ต้องหาส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวัดตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นซ้ำ หากส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานมีความสัมพันธ์เชิงเส้นกับความเข้มข้น สามารถคำนวณส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์รวม(pooling relative standard deviation, RSDpool) แสดงความเที่ยงของการวัดตลอดช่วงการใช้งาน

การตรวจสอบความถูกต้องของการวัด ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ครอบคลุมช่วงการใช้งาน ต้องหาความคลาดเคลื่อน โดยการวัดสารมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ หากความคลาดเคลื่อนมีความสัมพันธ์เชิงเส้นกับความเข้มข้น สามารถหาความความคลาดเคลื่อนของการวัด ตลอดช่วงการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใช้งานความสัมพันธ์เชิงเส้น เป็นวิธีการทางสถิติที่มีประโยชน์ในงานวิเคราะห์ทดสอบ ทั้งในด้านการวิเคราะห์หาปริมาณสารด้วยเครื่องมือ และแสดงคุณลักษณะเฉพาะของวิธีในขั้นตอนการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี ซึ่งสามารถนำข้อมูลดังกล่าวไปใช้ประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัดได้ในการทำงานปกติ

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.7.1 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน

Xiangqin Zou และคณะ [17] ทำการเตรียมโครงสร้างนาโนของทอง-เงิน สังเคราะห์โดยวิธีการปลูกเมล็ด (seed-mediated growth) ด้วยอนุภาคนาโนเงินรูปแบบแผ่นโดยที่ไม่มีสารลดแรงตึงผิว ระหว่างกระบวนการสังเคราะห์พบว่าอนุภาคนาโนเงินรูปแบบแผ่น หลังจากเก็บไว้พื้นผิวจะขรุขระ เนื่องจากโครงสร้างของอนุภาคนาโนจะขึ้นกับสัดส่วนโมลของไอออนทองต่ออนุภาคของซีด เมื่อสัดส่วนโมลของไอออนทองต่ออะตอมของเงินเพิ่มขึ้นจาก 0.5 ถึง 4 รูพรุนหรือกิ่งของโครงสร้างทอง-เงินจะเกิดขึ้น โครงสร้างที่เกิดขึ้นนั้นเนื่องจากการเกิดร่วมกันระกว่างปฏิกิริยาการทดแทนและการเกิดเกิดปฏิกิริยาของ seed-mediated การสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินต้องควบคุมรูปและขนาดเนื่องจากสมบัติต่างๆ จะขึ้นกับขนาดและรูปร่าง ในงานวิจัยนี้สังเคราะห์โดยใช้วิธีปลูกเมล็ด (seed-mediated growth) ซึ่ง seed ที่เตรียมได้เมื่อนำไปตรวจวัดด้วย TEM มีรูปร่างใกล้เคียงกับทรงกลมเส้นผ่านศูนย์กลาง 8.5±3.5 นาโนเมตร อนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ได้จากซีด จะใช้ซิเตรทเพื่อเป็นสารให้ความคงตัว

Hwa Kyung Sung และคณะ [18] ทำการเตรียมอนุภาคนาโนเงินรูปแบบที่แตกต่างกันโดยเตรียมจากสารละลายซิลเวอร์ซีด โดยมีซิเตรทเป็นตัว stabilize สารละลายซิลเวอร์ซีดนี้มีขนาด 3-4 นาโนเมตร ก่อนนำไปใช้จะต้องเก็บไว้ในที่มืด สารละลายที่ได้นี้สามารถนำไปเตรียมเป็นอนุภาคนาโนเงินรูปแบบต่างๆได้ คือ อนุภาคนาโนเงินรูปร่างแบบกลม แบบแผ่น และแบบแท่ง รูปร่างแบบกลมเตรียมจาก 85 มิลลิกรัมของ $AgNO_3$ และ 83 มิลลิกรัมของ PVP เติมลงใน 10 มิลลิลิตร ของ ethylene glycol นำไปให้ความร้อน 20 นาที ทำการแยกอนุภาคโดยการหมุนเหวี่ยง ชะด้วย 19.4 มิลลิลิตรของน้ำปราศจากไอออน และ 0.6 มิลลิลิตรของ 10 มิลลิโมลต่อลิตร ของ $NaBH_4$ รูปร่างแบบแผ่นเตรียมจากการละลาย 0.1 กรัม TSC 0.14 มิลลิลิตร 18 มิลลิโมลต่อลิตร ของ $AgNO_3$ 0.1 มิลลิลิตร 100 มิลลิโมลต่อลิตร ของแอสคอร์บิก ละลายในน้ำปราศจากไอออน 20 มิลลิลิตร และเติมซิลเวอร์ซีด 0.4 มิลลิลิตร โดยปราศจากการปั่นกวน สารละลายจะได้สีน้ำเงิน รูปร่างแบบแท่งเตรียมจาก 0.25 มิลลิลิตร ของซิลเวอร์ซีด ใส่ลงในส่วนผสมของ 10 มิลลิลิตร 25 มิลลิโมลต่อลิตรของ CTAB 0.14 มิลลิลิตร 0.125 มิลลิลตร 10 มิลลิโมลต่อลิตร ของ $AgNO_3$ 0.125 มิลลิลิตร 100 มิลลิโมลต่อลิตร ของแอสคอร์บิก จากนั้นเติม NaOH 1 โมลาร์ จนปรากฏเป็นสีน้ำเงิน จากนั้นนำอนุภาคนาโนเงินรูปแบบต่างๆที่ได้มาปรับปรุงด้วย GSH สำหรับการตรวจวัดไอออนของโลหะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Xiao-Dong Xia และคณะ [19] ซิลเวอร์นาโนเป็นวิธีตรวจวัดเซ็นเซอร์ใหม่สำหรับ Cu^{2+} โดยซิลเวอร์นาโน สังเคราะห์ได้จาก H_2O_2, $NaBH_4$ ด้วยวิธี cyclic oxidation reduction reactions โดยใช้แอสคอเบทเป็นตัวรีดิวซ์ Cu^{2+} จะรีดิวซ์เป็น Cu^{+} และ Cu^{+} รีดิวซ์เป็น Cu โดยจะเกิดการสะสม Cu บนพื้นที่ผิวของซิลเวอร์นาโน และการสะสมกันของ Cu นี้จะทำให้เกิดเป็นสีแดงขึ้นและเกิดการดูดกลืนแสงในระดับนาโน โดย Cu^{2+}สามารถตรวจพบได้จากการเปลี่ยนแปลงความยาวคลื่นโดยใช้ความเข้มข้นอยู่ในช่วง 40-340 mM และขีดจำกัดการตรวจวัดอยู่ที่ 9.0 mM ซิลเวอร์นาโนถือเป็นวิธีที่ตรวจวัด Cu^{2+} ที่ดีเนื่องจากไม่มีโลหะและไอออนรบกวน นอกจากนี้ยังเป็นวิธีที่ง่าย มีความจำเพาะเจาะจง และได้ผลดี

2.7.2 การวิเคราะห์วิตามินซีเชิงปริมาณโดยวิธีอื่นๆ

Hongyan Bi และคณะ [20] พัฒนาตัวตรวจวัดไมโครฟลูอิดิกส์ มีเป้าหมายเพื่อการตรวจวัดส่วนประกอบอย่างจำเพาะใน ยา อาหาร และเครื่องดื่ม โดยพื้นผิว polydimethylsiloxane (PDMS) ของช่องไหลนี้ถูกปรับปรุงโดยเอนไซม์ตัวดูดซับทางกายภาพ เมื่อบรรจุสารประกอบที่ต้องการตรวจวัดลงในช่องไหลนี้ ปฏิกิริยาการกระตุ้นของเอนไซม์จะปรากฏขึ้น และจะเกิดการเปลี่ยนแปลงของโมเลกุลเป้าหมายเป็นสารผลิตภัณฑ์ ซึ่งจะตรวจวัดโดยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโคปี ที่ช่วงความยาวคลื่น 266 นาโนเมตร Ascorbate oxidase และ แอสคอร์บิก ถูกนำมาใช้เป็นโมเดลเอนไซม์ในงานวิจัยนี้เพื่อทดสอบความเป็นไปได้ของวิธีที่พัฒนาขึ้นสำหรับการตรวจวัดวิตามินซีเชิงปริมาณในสารละลายมาตรฐานและสารประกอบ ผลิตภัณฑ์อาหารเสริม วิตามินซีชนิดเม็ด เป็นตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์ ผลที่ได้คือ ความสามารถในการทำซ้ำ (Reproducibility) ที่ดี มีความคงตัว สามารถต้านตัวรบกวนได้ ซึ่งเทคนิคนี้ ง่าย เร็ว ไม่แพง เครื่องมือใช้เพียงเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโคปี

2.7.3 การวิเคราะห์วิตามินซีเชิงปริมาณโดยอนุภาคนาโนเงิน

Danielle Cristhina Melo Ferreira และคณะ [21] แสดงให้เห็นถึงการใช้อนุภาคนาโนเงินครั้งแรกสำหรับการหาปริมาณกรดแอสคอร์บิกในตัวตรวจวัดกระดาษ ซึ่งอุปกรณ์ประกอบไปด้วยชุดทดสอบแบบจุดที่ปรับปรุงด้วยอนุภาคนาโนเงิน(ที่มี polyvinylpyrrolidone(PVP) เป็นสารให้ความคงตัว) 0.5-2.5 ไมโครลิตร และซิลเวอร์ไอออน ซึ่งชุดทดสอบนี้จะมีส่วนที่ไม่ชอบน้ำอยู่คือทำการเคลือบไข เทคนิคนี้เป็นวิธีการวิเคราะห์เชิงปริมาณและเป็นวิธีที่รวดเร็วสำหรับการวิเคราะห์กรดแอสคอร์บิก โดยการสังเกตจุดของสารตัวอย่างซึ่งเตรียมกรดแอสคอร์บิกในบัฟเฟอร์ซิตริก ตัวตรวจวัดกระดาษที่ปรับปรุงด้วยอนุภาคนาโนเงินนี้ จะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีเทาเมื่อทำการเติมกรดแอสคอร์บิกลงไประหว่างที่อนุภาคนาโนเงินกำลังเกิดปฏิกิริยาและเกิดการรวมตัวกัน สังเกตเห็นหลังจากหยดตัวอย่าง 15-20 นาที ความเข้มของสีจะถูกกำหนดโดยความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิกซึ่งตรวจวัดได้ด้วยเครื่องสแกน หรือเครื่องวัดค่าสีอย่างง่าย ผลที่ได้ ขีดจำกัดการตรวจวัดจะนำไปเปรียบเทียบกับวิธีการวิเคราะห์ทั่วไปที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ และ ความไวของตัวตรวจวัดนี้จะนำไปเปรียบเทียบกับวิธีการไทเทรต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

งานวิจัยนี้สนใจศึกษาเกี่ยวกับการหาปริมาณวิตามินซีโดยการประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนเงิน ศึกษาจากการตรวจวัดด้วยเทคนิคอัลตราไวโอเลตและวิสิเบิลสเปกโทรสโคปี(UV-vis spectroscopy) นำมาสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อหาแนวโน้มความเป็นเส้นตรงของวิธีนี้

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

3.1.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

1) ชุดเครื่องแก้ว

2) เครื่องชั่งความละเอียด 4 ตำแหน่ง Metller Toledo, ME-204E

3) เครื่องปั่นกวน Bosstech,ms3

4) ชุดเครื่องกรองแบบลดความดัน

5) กระดาษกรองเบอร์ 1

7) เครื่องวิเคราะห์อัลตราไวโอเลตและวิสิเบิลสเปกโทรมิเตอร์ (UV-Visible Spectrophotometer) SHIMADZU,UV-1800

3.1.2 สารเคมี

1) น้ำปราศจากไอออน (deionized water)

2) ซิลเวอร์ไนเทรต ($AgNO_3$; LR Grade,CARLO ERBA, United States of America)

3) โซเดียมโบโรไฮไดร์ ($NaBH_4$; LR Grade,MERCK, Germany)

4) แอสคอร์บิก ($C_6H_8O_6$; LR Grade,CARLO ERBA, United States of America)

5) ไตรโซเดียมซิเทรต ($Na_3C_6H_5O_7$; LR Grade,CARLO ERBA, United States of America)

3.2 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

3.2.1 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน

3.2.1.1 การสังเคราะห์ซิลเวอร์ซีด (Ag-seed) โดยวิธี การปลูกเม็ด (seed-mediated growth method)

3.2.1.2 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน (Silver nano)

3.2.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานวิตามินซี

3.2.3 ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.3.1 ศึกษาลักษณะการเกิดปฏิกิริยากับอนุภาคนาโนเงิน

3.2.3.2 ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาของวิตามินซี

3.3 วิธีดำเนินการทดลอง

3.3.1 ศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน [18]

3.3.1.1 การสังเคราะห์ซิลเวอร์ซีด (Ag-seed)

1) ปิเปตสารละลายไทรโซเดียมซิเทรต (TSC) ความเข้มข้น 17 มิลลิโมลต่อลิตร ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร และ สารละลายซิลเวอร์ไนเทรต ($AgNO_3$) ความเข้มข้น 18 มิลลิโมลต่อลิตร ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร ลงในน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 20 มิลลิลิตร

2) หยดสารละลายโซเดียมโบโรไฮไดร์ ($NaBH_4$) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลต่อลิตร ปริมาตร 0.60 มิลลิลิตร (หยดอย่างช้าๆ) ลงในสารละลายที่เตรียมได้ขั้นต้น ภายใต้การปั่นกวนที่แรงและต่อเนื่อง

3) นำสารละลายที่ได้ทำการเก็บไว้ในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน (Silver nano) ในขั้นตอนต่อไป

3.3.1.2 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน (Silver nano)

1) ชั่งไทรโซเดียมซิเทรต (TSC) จำนวน 0.10 กรัม ละลายในน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 20 มิลลิลิตร

2) ปิเปตสารละลายซิลเวอร์ไนเทรต ($AgNO_3$) ความเข้มข้น 18 มิลลิโมลต่อลิตร ปริมาตร 0.14 มิลลิลิตร ลงในสารละลายในข้อ 1) ตามด้วยกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 100 มิลลิโมลต่อลิตร ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร

3) ทำการเติมซิลเวอร์ซีด ที่เตรียมจาก 3.3.1.1 ปริมาตร 0.40 มิลลิลิตร ลงไปสารละลายจะค่อยๆเปลี่ยนจากสีเหลืองใส เป็นสารละลายสีน้ำเงิน

3.3.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานวิตามินซี

3.3.2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานวิตามินซี

1) ชั่งกรดแอสคอร์บิก 8.80 กรัม นำมาละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนเพียงเล็กน้อย คนให้ละลาย ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร จากนั้นหุ้มขวดด้วยฟรอยด์

2) สารละลายที่เตรียมได้มีความเข้มข้น 1000 มิลลิโมลต่อลิตร สารละลายที่ได้ในข้อนี้จะใช้สำหรับในการเตรียมเป็นสารละลายกรดแอสคอร์บิกความเข้ม 50, 100, 150 และ200 มิลลิโมลต่อลิตร ในขั้นตอนต่อไป

3) นำสารละลายจากข้อ 2) มาเจือจางเพื่อเตรียมเป็นสารละลายความเข้ม 50, 100, 150 และ200 มิลลิโมลต่อ ซึ่งในแต่ละความเข้มข้นเตรียมดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แอสคอร์บิกความเข้มข้น 50 มิลลิโมลต่อลิตร

เตรียมได้จากการปิเปต stock standard ปริมาตร 1.25 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร

แอสคอร์บิกความเข้มข้น 100 มิลลิโมลต่อลิตร

เตรียมได้จากการปิเปต stock standard ปริมาตร 2.50 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร

แอสคอร์บิกความเข้มข้น 150 มิลลิโมลต่อลิตร

เตรียมได้จากการปิเปต stock standard ปริมาตร 3.75 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร

แอสคอร์บิกความเข้มข้น 200 มิลลิโมลต่อลิตร

เตรียมได้จากการปิเปต stock standard ปริมาตร 5.00 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร

สารละลายมาตรฐานวิตามินซีความเข้มข้น 50, 100, 150 และ 200 มิลลิโมลต่อลิตร ที่เตรียมได้ ใช้สำหรับการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินตามขั้นตอนในข้อ 3.3.1 เพื่อทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีในขั้นตอนต่อไป

3.3.3 ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซี

3.3.3.1 ศึกษาลักษณะการเกิดปฏิกิริยากับอนุภาคนาโนเงิน

ทำการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน จากสารละลายมาตรฐานวิตามินซีความเข้มข้น 50, 100, 150 และ 200 มิลลิโมลต่อลิตร ที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.2 ตามขั้นตอนในข้อ 3.3.1 (โดยสัดส่วนระหว่างกรดแอสคอร์บิกต่อซิลเวอร์ซีดคือ 1:4 มิลลิลิตร) มีขั้นตอนดังนี้

1) ชั่งไทรโซเดียมซิเทรต (TSC) 0.10 กรัม ละลายในน้ำปราศจากไอออน 20 มิลลิลิตร

2) ปิเปตสารละลายซิลเวอร์ไนเทรต ($AgNO_3$) ความเข้มข้น 18 มิลลิโมลต่อลิตร ปริมาตร 0.14 มิลลิลิตร ลงในสารละลายในข้อ 1) ตามด้วยกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 50 มิลลิโมลต่อลิตร ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร

3) เติมซิลเวอร์ซีด (Ag-seed) ที่เตรียมจาก 3.3.1.1 จำนวน 0.40 มิลลิลิตรลงไป สารละลายจะค่อยๆเปลี่ยนจากสีเหลืองใส เป็นสารละลายสีน้ำเงิน

4) ทำการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินซ้ำอีกครั้งโดยใช้กรดแอสคอร์บิกมาตรฐานความเข้มข้น 100, 150 และ 200 มิลลิโมลต่อลิตร แทนกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 50 มิลลิโมลต่อลิตร

5) จะได้อนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ได้จาก กรดแอสคอร์บิกที่มีความเข้มข้น 50, 100, 150 และ 200 มิลลิโมลต่อลิตร

6) นำอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ได้จากกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้นต่างๆ ตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงเพื่อทดสอบสภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซี โดยนำไปตรวจวัดที่ช่วงความยาวคลื่น 400-1000 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-vissible spectrophotometry

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7) วิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากข้อ 6) โดยเลือกความยาวคลื่นที่เหมาะสมสำหรับการเกิดปฏิกิริยาของวิตามินซี เพื่อใช้ในการศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาในขั้นตอนต่อไป

3.3.3.2 ศึกษาเวลาที่เหมาะสมของวิตามินซี

1) นำอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ได้จาก กรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 50, 100, 150 และ 200 มิลลิโมลต่อลิตร ตั้งทิ้งไว้ ณ อุณหภูมิห้องที่เวลาต่างๆดังนี้ 10, 20, 40 และ 60 นาที

2) นำอนุภาคนาโนที่ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที ทำการตรวจวัดช่วงความยาวคลื่น 400-1000 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-vissible spectrophotometry

3) นำอนุภาคนาโนเงินจากข้อ 2) ที่ทำการตรวจวัดแล้ว ตั้งทิ้งไว้จนครบเวลา 20 นาที นำไปตรวจวัดอีกครั้งที่ช่วงความยาวคลื่น 400-1000 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-vissible spectrophotometry

4) ทำการตั้งอนุภาคนาโนจากข้อ 3) ทิ้งไว้จนครบตามเวลาที่กำหนดขั้นต้น (40 และ 60 นาที) และนำไปตรวจวัดอีกครั้งที่ช่วงความยาวคลื่น 400-1000 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-vissible spectrophotometry

5) วิเคราะห์สเปกตรัมการดูดกลืนแสงที่ได้จากการตรวจวัดโดยการตั้งอนุภาคนาโนเงินทิ้งไว้ที่เวลาต่างๆ นำไปสร้างกราฟแนวโน้มความเป็นเส้นตรง ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของความยาวคลื่นที่เหมาะสมจากข้อ 3.2.3.1 และความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิกที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน

6) เลือกเวลาที่เหมาะสมของการเกิดปฏิกิริยา โดยตัดสินจากค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจของกราฟแนวโน้มความเป็นเส้นตรง ที่ได้จากข้อ 5) เพื่อใช้เป็นกราฟมาตรฐานในการคำนวณหาปริมาณวิตามินซีในตัวอย่างอาหารเสริมในขั้นตอนต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน

การสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินในงานวิจัยนี้จะใช้วิธี การปลูกเม็ด (seed-mediated growth method)

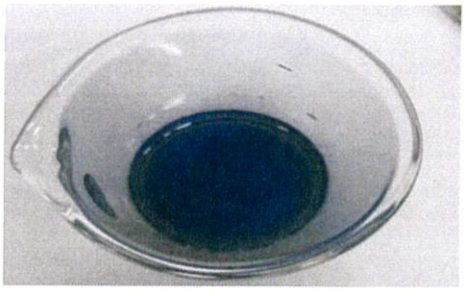
4.1.1 การสังเคราะห์ซิลเวอร์ซีด (Ag seed)

ทำการสังเคราะห์ซิลเวอร์ซีด (Ag seed) ด้วยการอาศัยการทำปฏิกิริยากันระหว่าง ซิลเวอร์ไนเตรตและ โซเดียมโบโรไฮไดร์ โดยมีไทรโซเดียมซิเตรทเป็นสารให้ความคงตัว (stabilized) จะได้สารละลายสีเหลืองของซิลเวอร์ซีด (Ag seed) ขนาด 3-4 นาโนเมตร ดังรูปที่ 4.1

รูปที่ 4.1 ซิลเวอร์ซีด

4.1.2 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน (Silver nano)

ทำการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน โดยการเติมซิลเวอร์ซีด (Ag seed) ที่เตรียมได้จาก 4.1.1 ลงในสารละลายผสมของไทรโซเดียมซิเทรต ซิลเวอร์ไนเทรต และกรดแอสคอร์บิก โดยกรดแอสคอร์บิกจะทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์อ่อนๆ จากนั้นสารละลายจะเกิดการเปลี่ยนแปลงเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น โดยจะเริ่มเปลี่ยนจากสีเหลืองใส เป็นสีส้ม สีชมพู สีม่วง และสีน้ำเงินตามลำดับ



รูปที่ 4.2 อนุภาคนาโนเงิน

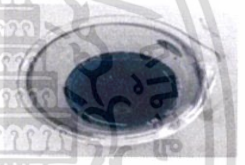
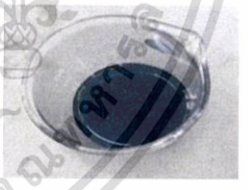
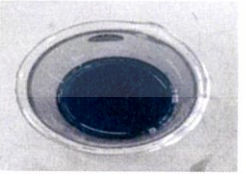
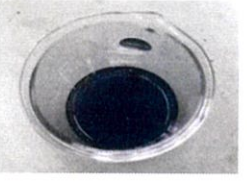
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2. ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซี

4.2.1 ศึกษาลักษณะการเกิดปฏิกิริยากับอนุภาคนาโนเงิน

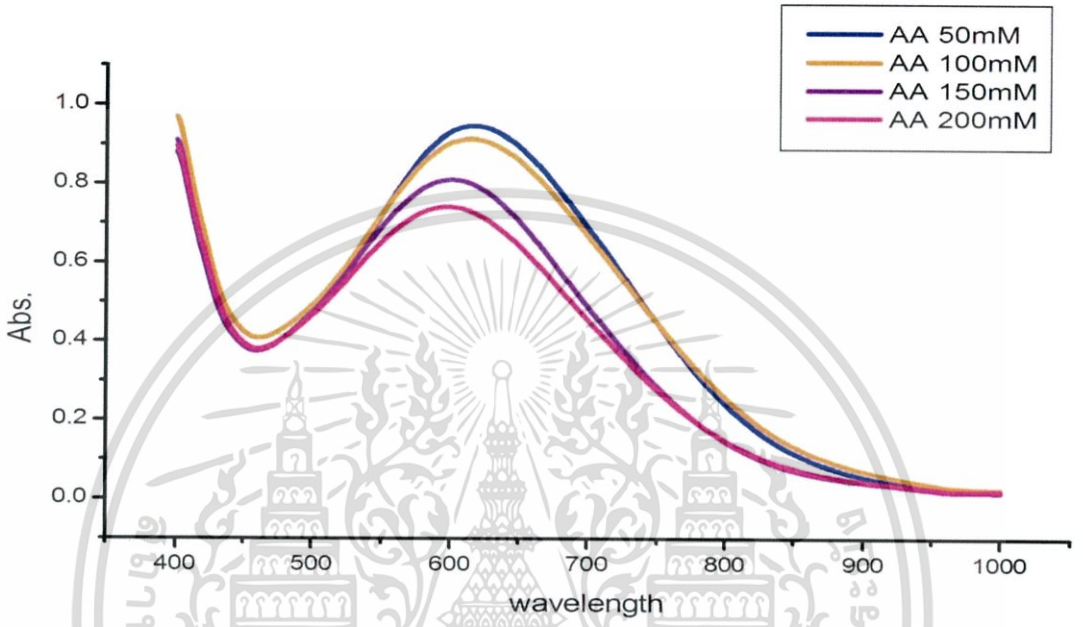
ทำการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน จากสารละลายมาตรฐานวิตามินซีความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ 50, 100, 150 และ 200 มิลลิโมลต่อลิตร เมื่อนำสารละลายที่ได้จากการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินนี้มาเปรียบเทียบสีกับสารละลายที่สังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินด้วยสารละลายมาตรฐานวิตามินซีความเข้มข้น 100 มิลลิโมลต่อลิตร ซึ่งเป็นความเข้มข้นของการสังเคราะห์ซิลเวอร์นาโนตามวิธี seed-mediated growth พบว่าสีของสารละลายที่ได้อยู่ในโทนสีน้ำเงินตามวิธี seed-mediated growth ดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงสีของสารละลายอนุภาคนาโนเงินที่ทำการสังเคราะห์โดยใช้สารละลายมาตรฐานวิตามินซีที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิกที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน (มิลลิโมลต่อลิตร)	สีของสารละลาย
50	
100	
150	
200	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคนาโนเงิน ที่ทำการสังเคราะห์จากสารละลายมาตรฐานวิตามินซีที่ความเข้มข้นต่างๆ ในช่วงความยาวคลื่น 400-1000 นาโนเมตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็นแบลงค์ ซึ่งพบว่าความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของแอสคอร์บิกที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน จะแปรผกผันกับค่าการดูดกลืนแสง คือเมื่อความเข้มข้นของแอสคอร์บิกที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินเพิ่มขึ้น ค่าการดูดกลืนแสงจะมีค่าลดลง แสดงให้เห็นดังรูปที่ 4.3



รูปที่ 4.3 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงช่วงความยาวคลื่นช่วง 400-1000 นาโนเมตรของอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ด้วยสารละลายวิตามินซีความเข้มข้นต่างๆ

อนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์จากสาระลายมาตรฐานวิตามินซีความเข้มข้น 50 มิลลิโมลต่อลิตร เมื่อทำการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วงความยาวคลื่น 400-1000 นาโนเมตร พบว่าให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุด รองลงมาคืออนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์จากสารละลายมาตรฐานวิตามินซีความเข้มข้น 100, 150 และ 200 มิลลิโมลต่อลิตร ตามลำดับ และยังพบอีกว่า ที่ความยาวคลื่น 590 นาโนเมตร เป็นความยาวคลื่นที่เหมาะแก่การนำไปสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อหาแนวโน้มความเป็นเส้นตรงสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีในอาหารเสริมต่อไป เนื่องจาก เป็นค่าเฉลี่ยความยาวคลื่นสูงสุด ของการดูดกลืนแสงอนุภาคนาโนเงินที่ทำการสังเคราะห์ได้จากสาระลายมาตรฐานวิตามินซีความเข้มข้นต่างๆ

4.2.2 ศึกษาเวลาที่เหมาะสมของวิตามินซี

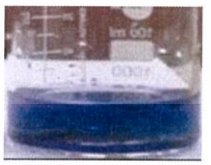
4.2.2.1 สีของอนุภาคนาโนเงินเมื่อเวลาผ่านไปที่เวลาต่างๆ

ทำการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน โดยการเติมซิลเวอร์ซีด ที่เตรียมได้ลงในสารละลายผสมของไทรโซเดียมซิเทรต ซิลเวอร์ไนเทรต และกรดแอสคอร์บิก โดยกรดแอสคอร์บิกจะทำหน้าที่เป็นตัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รีดิวซ์อ่อนๆ จากนั้นสารละลายจะเกิดการเปลี่ยนแปลงเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น และพบว่าเมื่อตั้งทิ้งไว้ 10 นาที (600 วินาที) สีของสารละลายจะเป็นสีน้ำเงินคงที่ไม่เปลี่ยนแปลง ดังตารางที่ 4.2

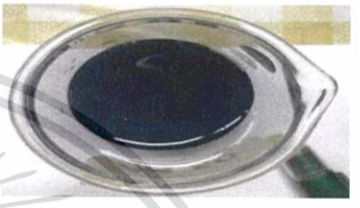
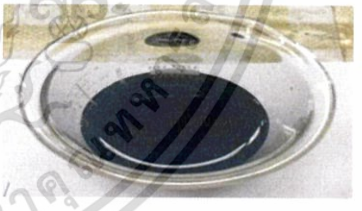
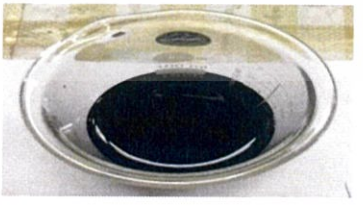
ตารางที่ 4.2 แสดงสีของสารละลายเมื่อตั้งทิ้งไว้ที่เวลา 0, 10, 30, 60, 120, 300, 600

เวลา (วินาที)	สีของสารละลาย
0	
30	
60	
120	
300	
600	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

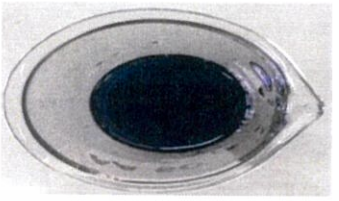
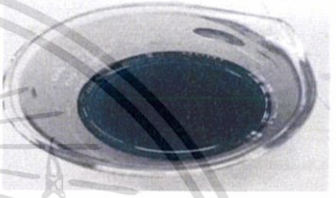
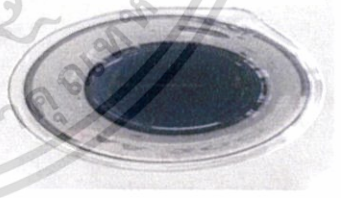
เมื่อนำอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ได้จาก กรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 50, 100, 150 และ 200 มิลลิโมลต่อลิตร ตั้งทิ้งไว้ ณ อุณหภูมิห้องที่เวลาต่างๆดังนี้ 10, 20, 40 และ 60 นาที พบว่าสีของสารละลายอยู่ในโทนสีน้ำเงินดังนี้

ตารางที่ 4.3 สีของสารละลายอนุภาคนาโนเงิน เมื่อตั้งทิ้งไว้ 10 นาที

ความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิคมาตรฐาน (มิลลิโมลต่อลิตร)	**สีของสารละลาย**
50	
100	
150	
200	

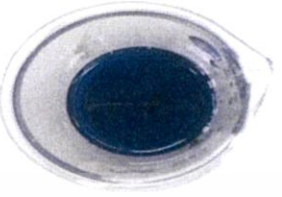
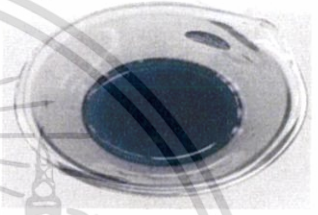
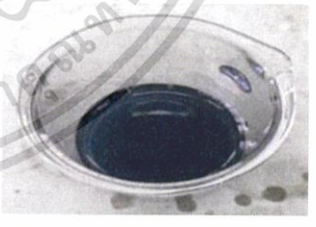
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 สีของสารละลายอนุภาคนาโนเงิน เมื่อตั้งทิ้งไว้ 20 นาที

ความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิคมาตรฐาน (มิลลิโมลต่อลิตร)	สีของสารละลาย
50	
100	
150	
200	

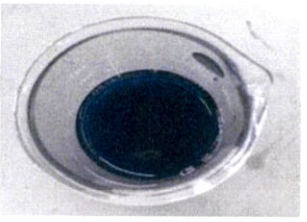
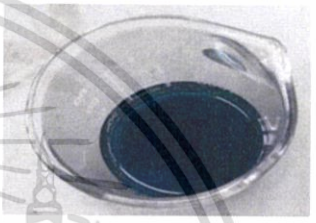
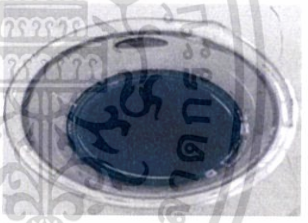
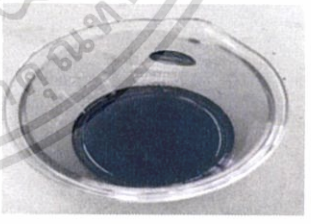
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 สีของสารละลายอนุภาคนาโนเงิน เมื่อตั้งทิ้งไว้ 40 นาที

ความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิคมาตรฐาน (มิลลิโมลต่อลิตร)	สีของสารละลาย
50	
100	
150	
200	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

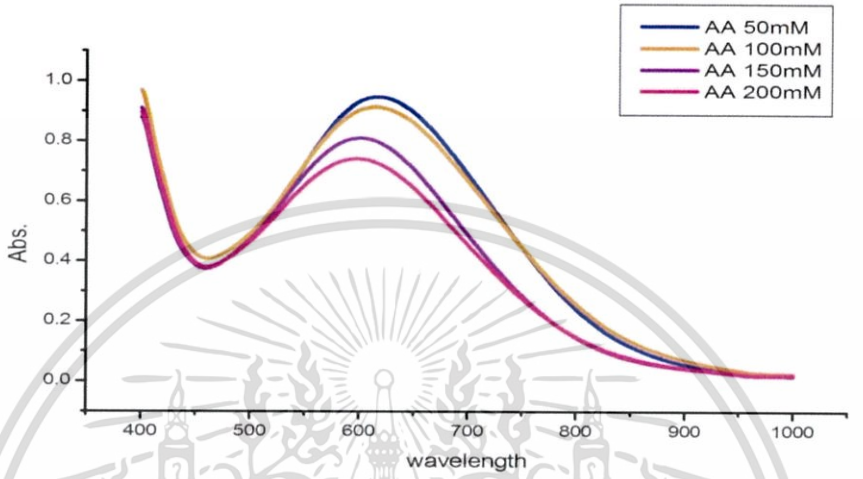
ตารางที่ 4.6 สีของสารละลายอนุภาคนาโนเงิน เมื่อตั้งทิ้งไว้ 60 นาที

ความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิกมาตรฐาน (มิลลิโมลต่อลิตร)	สีของสารละลาย
50	
100	
150	
200	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

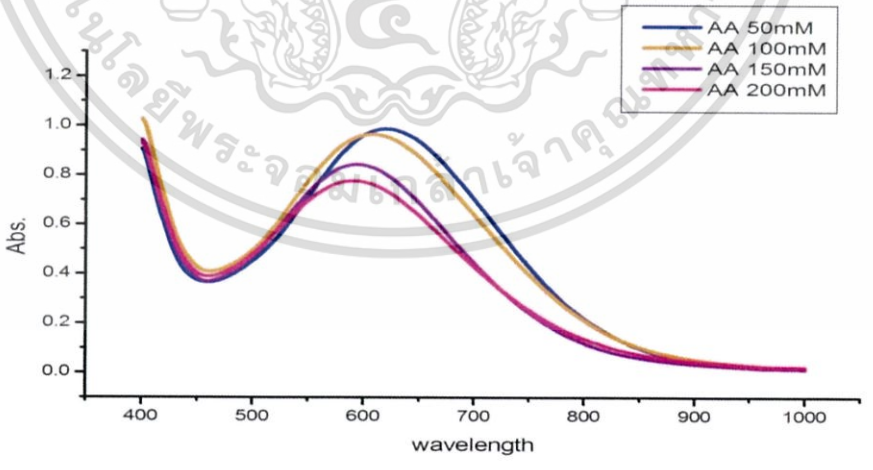
เมื่อนำอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ได้ ทำการตั้งทิ้งไว้ 10, 20, 40 และ 60 นาทีตามลำดับก่อนทำการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสง ในช่วง 400-1000 นาโนเมตร พบว่าสเปกตรัมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความยาวคลื่นของกรดแอสคอร์บิกมาตรฐานที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน ที่ตั้งไว้ที่เวลาต่างๆ เป็นดังนี้

ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที



รูปที่ 4.4 สเปกตรัมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความยาวคลื่นของกรดแอสคอร์บิกมาตรฐานที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน เมื่อตั้งไว้ที่เวลา 10 นาที ก่อนนำไปตรวจวัด

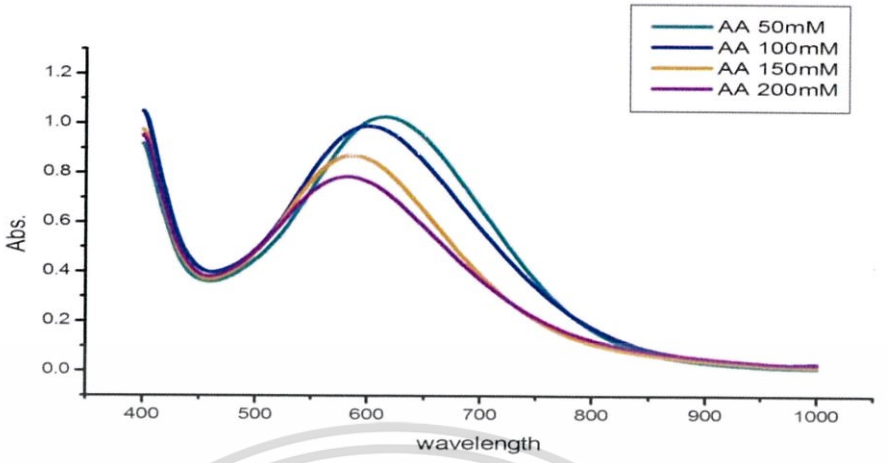
ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที



รูปที่ 4.5 สเปกตรัมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความยาวคลื่นของกรดแอสคอร์บิกมาตรฐานที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน เมื่อตั้งไว้ที่เวลา 20 นาที ก่อนนำไปตรวจวัด

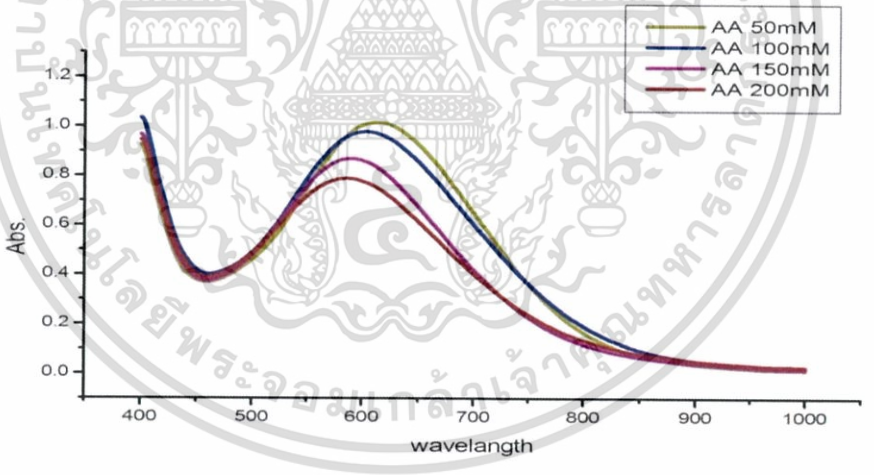
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตั้งทิ้งไว้ 40 นาที



รูปที่ 4.6 สเปกตรัมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความยาวคลื่นของกรดแอสคอร์บิกมาตรฐานที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน เมื่อตั้งไว้ที่เวลา 40 นาที ก่อนนำไปตรวจวัด

ตั้งทิ้งไว้ 60 นาที



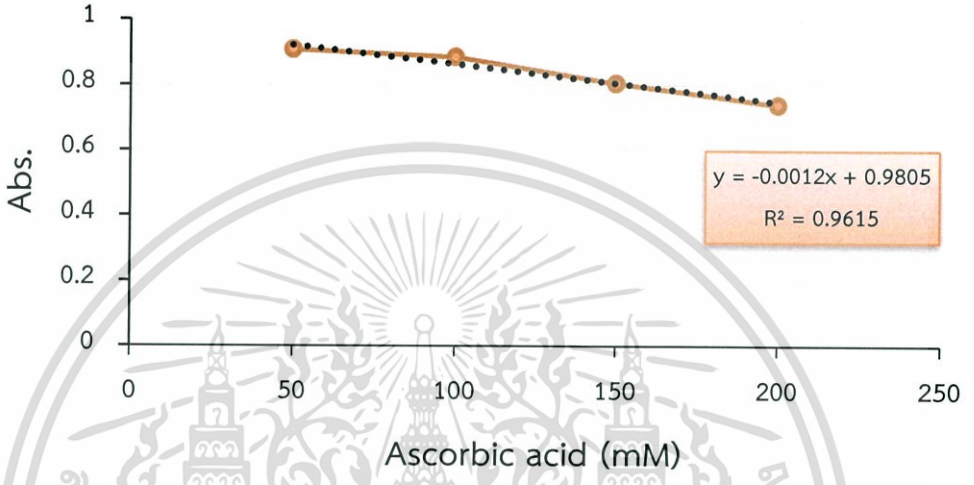
รูปที่ 4.7 สเปกตรัมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความยาวคลื่นของกรดแอสคอร์บิกมาตรฐานที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน เมื่อตั้งไว้ที่เวลา 60 นาที ก่อนนำไปตรวจวัด

พบว่า อนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ได้ ทำการตั้งทิ้งไว้ 10, 20, 30 และ 60 นาทีตามลำดับก่อนทำการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสง ในช่วง 400-1000 นาโนเมตร อนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ได้จากสารละลายมาตรฐานวิตามินซีความเข้มข้น 50 มิลลิโมลต่อลิตร ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

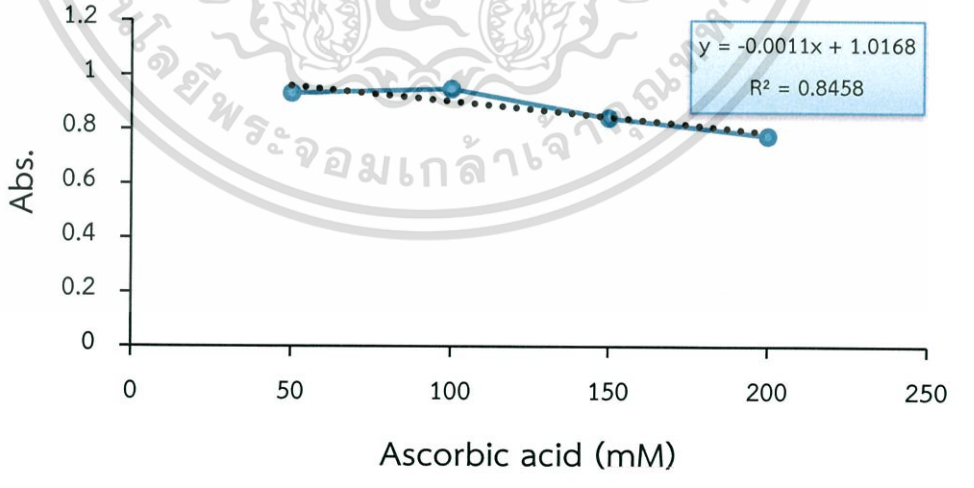
รองลงมาคืออนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์จากสาระลายมาตรฐานวิตามินซีความเข้มข้น 100, 150 และ 200 มิลลิโมลต่อลิตร ตามลำดับ และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 590 นาโนเมตร มาสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อหาแนวโน้มความเป็นเส้นตรง ของแต่ละช่วงเวลาที่ทำการตั้งอนุภาคนาโนเงินทิ้งไว้ก่อนทำการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสง พบว่ากราฟแสดงแนวโน้มความเป็นเส้นตรง ณ เวลาต่างๆ เป็นดังนี้

ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที



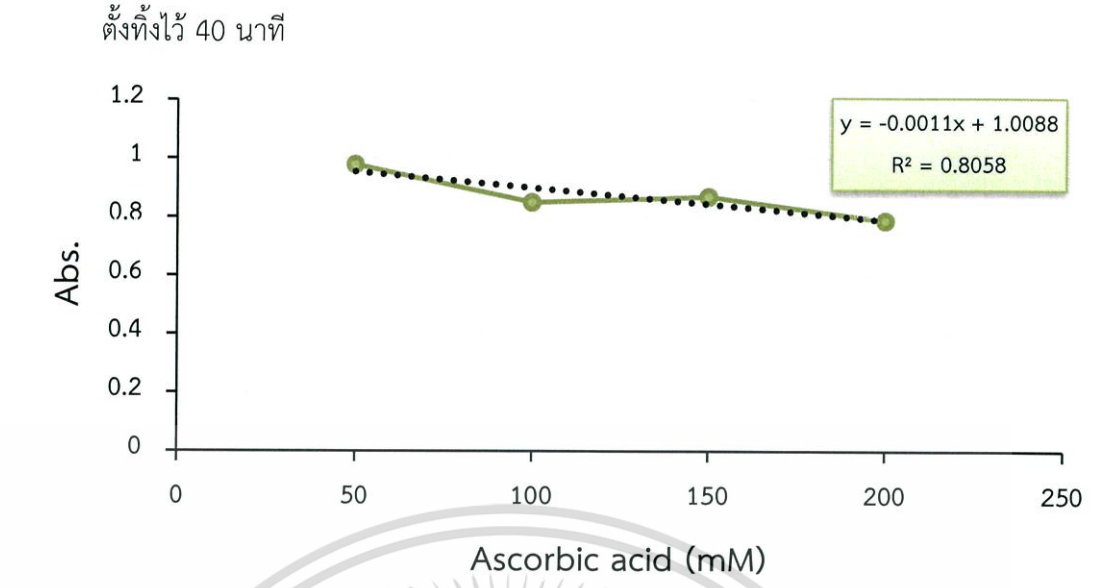
รูปที่ 4.8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 590 นาโนเมตร และความเข้มข้นของแอสคอร์บิกที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน เมื่อตั้งทิ้งไว้ 10 นาที

ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที

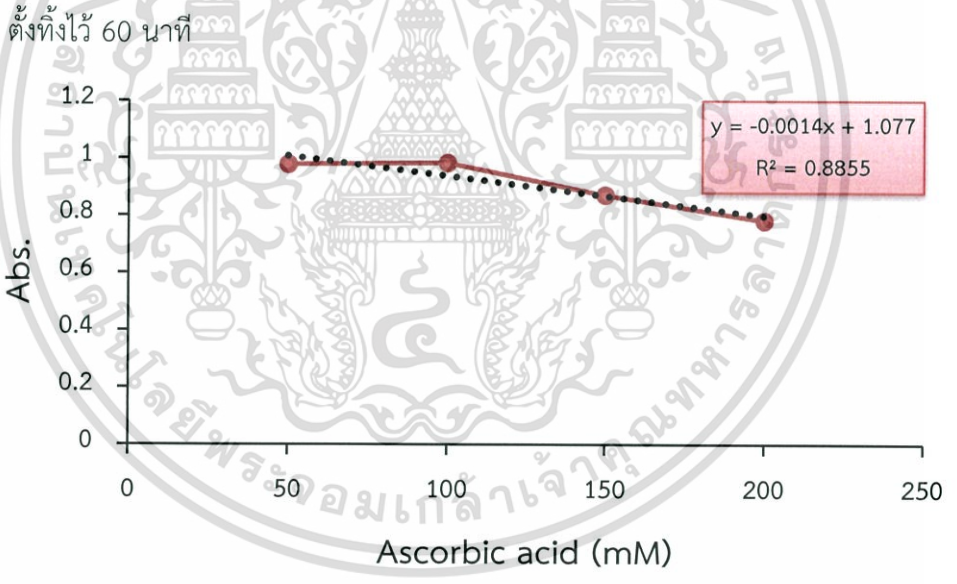


รูปที่ 4.9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 590 นาโนเมตรและความเข้มข้นของแอสคอร์บิกที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน เมื่อตั้งทิ้งไว้ 20 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.10 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 590 นาโนเมตรและความเข้มข้นของแอสคอร์บิกที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน เมื่อตั้งทิ้งไว้ 40 นาที



รูปที่ 4.11 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 590 นาโนเมตรและความเข้มข้นของแอสคอร์บิกที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน เมื่อตั้งทิ้งไว้ 60 นาที

เมื่อทำการสร้างกราฟมาตรฐาน ทำให้ทราบว่ากราฟมาตรฐานของช่วงเวลาที่ 10 นาทีนั้น กราฟมีแนวโน้มความเป็นเส้นตรงมากที่สุด คือ $y = -0.0012x + 0.9805$, $R^2 = 0.9615$ จึงเลือกเวลาที่ 10 นาที สำหรับสร้างกราฟมาตรฐานในการหาปริมาณวิตามินซี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

การวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซี จากการประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนเงิน โดยสังเคราะห์อนุภาคนาโนด้วยวิธีการปลูกเมล็ด (seed-mediated growth method) ซึ่งวิธีนี้เริ่มจากการสังเคราะห์ซิลเวอร์ซีด (Ag seed) ด้วยการอาศัยการทำปฏิกิริยากันระหว่าง ซิลเวอร์ไนเตรตและ โซเดียมโบโรไฮไดร์ โดยมีไทรโซเดียมซิเตรทเป็นสารให้ความคงตัว (stabilized) จะได้สารละลายสีเหลืองของซิลเวอร์ซีด (Ag seed) ขนาด 3-4 นาโนเมตร ซึ่งซิลเวอร์ซีดที่ได้นี้สามารถนำไปสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินรูปทรงต่างๆได้ทั้ง แบบทรงกลม (spherical silvernano) แบบแท่ง (silver nanorod) และแบบแผ่น (Silver nanoplate)

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน โดยอาศัยกรดแอสคอร์บิกทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์อ่อนๆ จึงนำมาประยุกต์ใช้ในการหาวิตามินซีเชิงปริมาณ พบว่าสารละลายที่ได้จะมีสีน้ำเงิน และทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซี ซึ่งเวลาที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาของวิตามินซีคือ 10 นาที และความยาวคลื่น 590 นาโนเมตร เป็นความยาวคลื่นที่เหมาะแก่การนำไปสร้างกราฟมาตรฐาน เนื่องจากเมื่อทำการสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อแสดงแนวโน้มความเป็นเส้นตรง แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 590 นาโนเมตร และสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 50, 100, 150 และ 200 มิลลิโมลต่อลิตร ทำให้ทราบว่ากราฟมาตรฐานของช่วงเวลาที่ 10 นาที ความยาวคลื่น 590 นาโนเมตร นั้น กราฟมีแนวโน้มความเป็นเส้นตรงมากที่สุด คือ $y = -0.0012x + 0.9805$, $R^2 = 0.9805$ จึงเลือกเวลาที่ 10 นาที สำหรับการวิจัยนี้

5.2 ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้ได้มุ่งเน้นศึกษาวิธีการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินด้วยวิธีการปลูกเมล็ด (seed-mediated growth method) เพื่อประยุกต์ใช้ในการหาวิตามินซีเชิงปริมาณ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องได้รับการพัฒนาเพิ่มเติมในแง่ของการใช้งานได้จริงสำหรับการนำไปตรวจวัดวิตามินซีในตัวอย่างต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

[1] ฉัตรชัย ไตรทอง,ร้อยเอก. 2553. "วิตามินซี (Ascorbic acid)." หน้า 1-3. ใน **บทความพิเศษ.** กรุงเทพฯ : กวฟ. รพ. ภูมิพลอดุลยเดช พอ. บนอ.

[2] **วิตามินซีคุณสมบัติทางเคมี.** [Online]. Available : http://www.siamchemi.com/วิตามินซี/; search : 16 May 2016.

[3] **ประโยชน์ของวิตามินซี.** [Online]. Available : http://www.oknation.net/blog/DIVING/2013/11/22/entry-2; search : 16 May 2016.

[4] Odori - Silver Nano Deo Spray. 2015. **Nano Silver.** [Slide]. Bangkok.

[5] เณศรา แก้วคง, เลิศณรงค์ ศรีพนม, เจ๊ะฮาซัน เจ๊ะอุบง และศิริวรรณ ตี้ภู่. 2014. **การสังเคราะห์และตรวจสอบสมบัติทางกายภาพและสมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์โดยวิธีรีดักชันทางเคมี.** ปทุมธานี : ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี.

[6] **surface plasmon resonance.** [Online]. Available : http://www.neutron.rmutphysics.com/science-news/; search : 16 May 2016.

[7] สถานวิจัยเพื่อความเป็นเลิศทางวิชาการด้านวิจัยและนวัตกรรมเพื่อสิ่งแวดล้อม. **ฐานข้อมูลความปลอดภัยของวัสดุนาโน.** พิษณุโลก : คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร.

[8] สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช). 2014. **มารู้จักนาโนซิลเวอร์.** กรุงเทพฯ : สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช).

[9] **การหาปริมาณวิตามินซีโดยการไทเทรตแบบรีดอกซ์.** [Online]. Available : www.sci.nu.ac.th/chemistry/directionlab/media_doc/256254/ปฏิบัติการที่4.pdf; search : 16 May 2016.

[10] **การหาปริมาณกรดแอสคอร์บิกในเม็ดวิตามินซีโดยวิธีโพเทนชิโอเมตริกรีดอกซ์ไทเทรชัน.** [Online]. Available : www.sci.nu.ac.th/chemistry/directionlab/media_doc/256252/256252.pdf; search : 16 May 2016.

[11] **การหาปริมาณวิตามินซีโดยวิธีคูลอมเมตริกไทเทรชัน.** [Online]. Available : www.sci.nu.ac.th/chemistry/directionlab/media_doc/256252/256252.pdf; search : 16 May 2016.

[12] **เครื่องวัดการดูดกลืนแสง.** [Online]. Available : http://home.kku.ac.th/chuare/12/spectrophotometer.pdf; search : 17 May 2016.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

[13] สถาบันนวัตกรรมและพัฒนาการเรียนรู้ มหาลัยมหิดล. **รูปแบบของเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์.** นครปฐม : มหาลัยมหิดล.

[14] **การทำปริมาณวิเคราะห์.** [Online]. Available : http://www.science.mju.ac.th/chemistry/download/s_sangsrichan/05UV-Visible%20Spectroscopy-UV-Vis-292557.pdf; search : 17 May 2016.

[15] นันทนา กันยานุวัฒน์ และนุชนาท นาคา. 2555. "แนวทางการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบทางเคมี." ใน **รายงานวิชาการฉบับที่ สอพ 1/2555.** กรุงเทพฯ : สำนักอุตสาหกรรมพื้นฐานกรมอุตสาหกรรมพื้นฐานและการเหมืองแร่.

[16] **ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง.** [Online]. Available : http://blpd.dss.go.th/knowledge_el/knowledge_uma.pdf; search : 17 May 2016.

[17] Xiangqin Zou, Erbo Ying, Shaojun Dong, 2006. **"Preparation of novel silver–gold bimetallic nanostructures by seeding with silver nanoplates and application in surface-enhanced Raman scattering."** Journal of Colloid and Interface Science, 306, 307-315.

[18] Hwa Kyung Sung, Seung Yeon Oh, Chulhwan Park and Younghun Kim, 2013. **"Colorimetric Detection of Co^{2+} Ion Using Silver Nanoparticles with Spherical,plate,and Rod Shapes."** Langmuir, 8978-8982.

[19] Xiao-Dong Xia , Tian-Lun Wang, Xiao-Yuan Yuan, 2014. **"Tuning plasmon absorption of unmodified silver nanoplates for sensitive and selective detection of copper ions by introduction of ascorbate."** Chinese Chemical Letters, 25, 1403–1406.

[20] Hongyan Bi, Ana Carolina Fernandes, Susana Cardoso, Paulo Freitas, 2016. **"Interference-blind microfluidic sensor for ascorbic acid determination by UV/vis spectroscopy."** Sensors and Actuators B: Chemical, 224, 668-675.

[21] Danielle Cristhina Melo Ferreira, Gabriela Furlan Giordano, Caio César dos Santos Penteado Soares, Jessica Fernanda Afonso de Oliveira, Renata Kelly Mendes, Maria Helena Piazzetta, Angelo Luiz Gobbi, Mateus Borba Cardoso, 2015. **"Optical paper-based sensor for ascorbic acid quantification using silver nanoparticles."** Talanta, 141, 188-194.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[22] **คู่มือการใช้งานเบื้องต้นโปรแกรม UVProbe ฉบับภาษาไทย.** [Online]. Available : http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/cru/booking/manual/MN-UV001.pdf; search : 18 May 2016.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

[22] **คู่มือการใช้งานเบื้องต้นโปรแกรม UVProbe ฉบับภาษาไทย.** [Online]. Available : http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/cru/booking/manual/MN-UV001.pdf; search : 18 May 2016.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

คู่มือการใช้งานเบื้องต้น โปรแกรม UVprobe Ver. 2.42 สำหรับเครื่อง UV-Visible spectroscopy รุ่น UV-1800 [22]

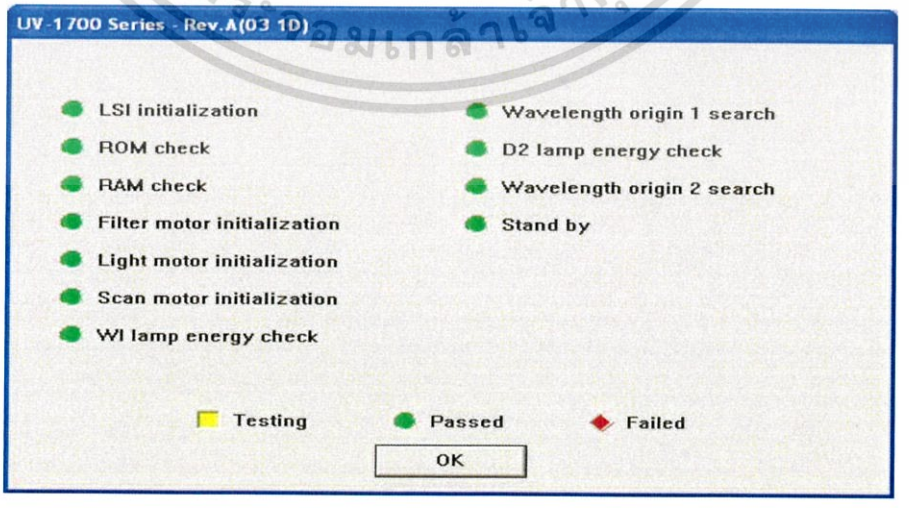
ในงานวิจัยนี้ได้ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคนาโนเงินโดยใช้เครื่อง UV-Visible spectrophotometer รุ่น UV-1800 ทำงานร่วมกับโปรแกรม UVprobe Ver. 2.42

รูปที่ ก.1 โปรแกรม UVprobe Ver. 2.42 [22]

ขั้นตอนการเปิดเครื่องและเข้าใช้งานโปรแกรม UVprobe Ver. 2.42

1. เปิดสวิตซ์ที่ตัวเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer
2. เปิดคอมพิวเตอร์ และ เปิดโปรแกรม UVprobe Ver. 2.42
3. กด

เพื่อเข้าใช้งานโปรแกรม UVProbe สำหรับการเปิดสวิตซ์ที่ตัวเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ในครั้งแรกของวันนั้น โปรแกรมจะทำการตรวจสอบความพร้อมของเครื่อง ดังรูปที่ ก.2



รูปที่ ก. 2 โปรแกรมทำการตรวจสอบความพร้อมของเครื่อง [22]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

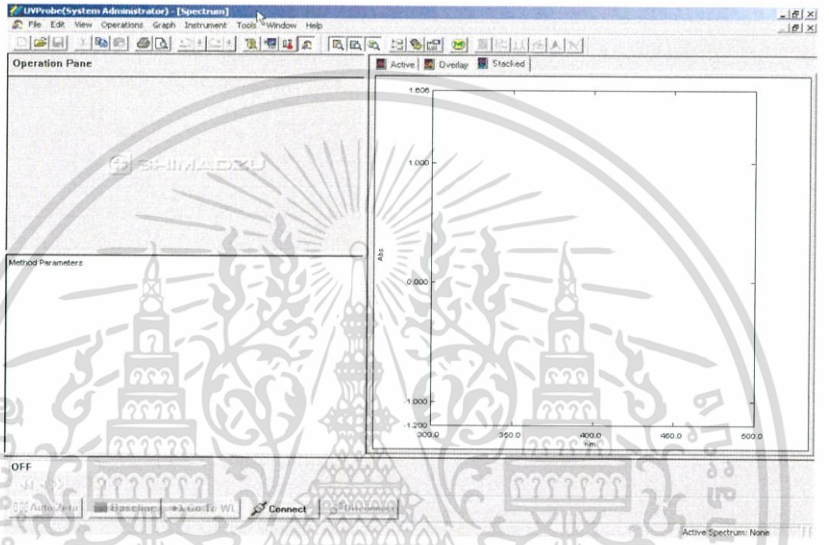
4. เมื่อเครื่องตรวจสอบตัวเองเรียบร้อย (ไฟแสดงสีเขียวทั้งหมด) จึง กด OK

5. อุ่นเครื่อง 15-30 นาทีก่อนใช้งาน

Spectrum mode

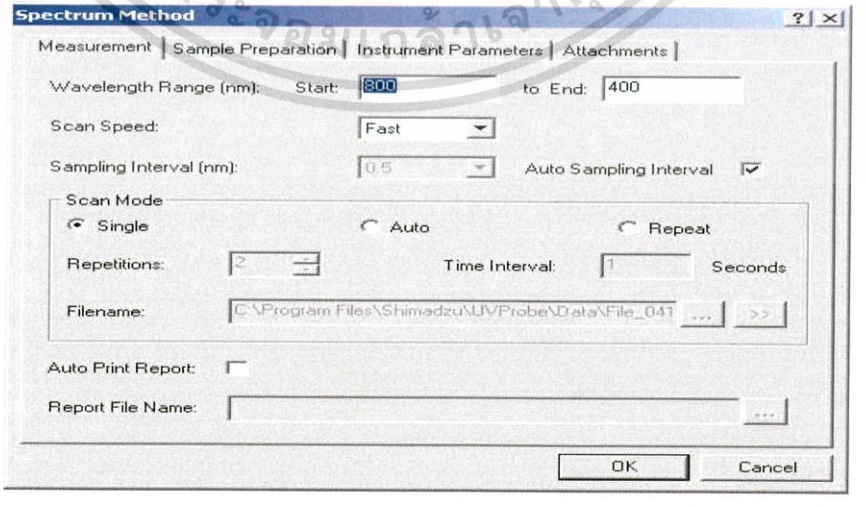
เป็นการสั่ง Scan Spectrum ในช่วงความยาวคลื่นที่ต้องการ โดยสามารถกำหนดให้อ่านผลของการ scan ออกมาเป็น Absorbance, Transmittance, Energy หรือ Reflectance ได้

1. กด ที่ Menu Bar เลือก Window และเลือก Spectrum หรือ Click ที่ Icon ที่ Toolbar จะปรากฏ ดังรูปที่ ก.3



รูปที่ ก.3 หน้าต่างแสดงการวิเคราะห์ spectrum [22]

2. กด ที่ Menu Bar เลือก Edit > Method หรือ Click ที่ Icon
ที่ Toolbar จะปรากฏดังรูปที่ ก. 4



รูปที่ ก.4 หน้าต่างการกำหนดค่าต่างๆที่ต้องการวิเคราะห์ [22]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

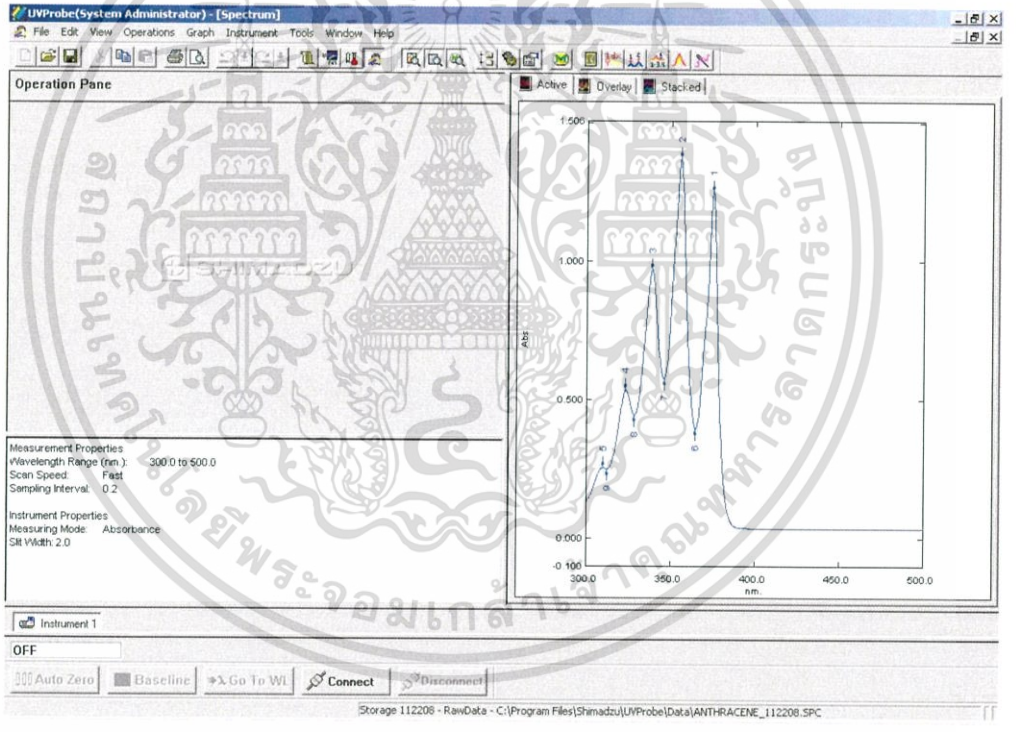
กำหนดค่าต่างๆดังนี้

Wavelength Range	ช่วงความยาวคลื่นจากค่ามากไปค่าน้อย
Scan Speed	medium
Sampling Interval	Auto Sampling Interval
Scan Mode	Single

3. เตรียม น้ำ ใส่ใน Reference Cell และ Sample Cell แล้ว Click ที่ Photometer Buttons เพื่อทำ Baseline Correction

4. เตรียม Blank Sample Cell แล้ว Click ที่ Photometer Buttons เพื่อทำ แบลงค์ โดยกด Auto zero และ Start

5. เตรียม Standard หรือ Sample ที่ต้องการวิเคราะห์ ใส่แทน Blank ใน Sample Cell จากนั้น กด Start ที่ Photometer Buttons เพื่อทาการ Scan Spectrum จะปรากฏดังรูปที่ ก.5



รูปที่ ก.5 แสดง spectrum ที่ทำการวิเคราะห์ได้ [22]

6. กด ที่ Menu Bar เลือก File และไปที่ Save As เพื่อ Save Data ใส่ชื่อ File ที่ต้องการ และเลือก Folder ที่จะเก็บ แล้วจึงเลือก Save as type เป็น Spectrum File จากนั้น กด Save

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้