บทความวิจัย

การสังเคราะห์คอลลอยด์ของอนุภาคนาโนโลหะคู่ที่มีอนุภาคโลหะเงินเป็นแกนกลางและโลหะทองเป็นเปลือกหุ้ม ด้วยวิธีที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมสำหรับตรวจวัดปริมาณไซยาไนด์แบบเปรียบเทียบสี

GREEN SYNTHESIS OF Ag@Au CORE-SHELL NANOPARTICLES FOR COLORIMETRIC DETECTION OF CYANIDE

วรวรรณ เสาวรส และ เขมฤทัย ถามะพัฒน์*

*ห้องปฏิบัติการสังเคราะห์และการใช้ประโยชน์จากเคมีสีเขียว ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี บางมด กรุงเทพฯ 10140
กลุ่มวิจัยวิทยาศาสตร์ประยุกต์และวิศวกรรมศาสตร์เพื่อคำตอบของสังคม คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี บางมด กรุงเทพฯ 10140

Worawan Saowaros and Kheamrutai Thamaphat*

*Green Synthesis and Application Laboratory, Department of Physics, Faculty of Science,
King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangmod, Bangkok 10140
Applied Science and Engineering for Social Solution, Faculty of Science,
King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangmod, Bangkok 10140

*E-mail: s903607@yahoo.com

บทคัดย่อ

มันสำปะหลังเป็นหนึ่งในพืชเศรษฐกิจที่สำคัญอย่างยิ่งของประเทศไทย โดยส่วนที่นิยมนำมาใช้หรือบริโภค คือ หัวมันสำปะหลังซึ่งเป็นรากที่โตขึ้นจากการสะสมอาหารในรูปของคาร์โบไฮเดรตหรือแป้ง อย่างไรก็ตามในหัวมันสำปะหลังมีสารประกอบไซยาโนจินิกไกลโคไซด์ซึ่งจะสลายตัวเป็นกรดไฮโดรไซยานิคหรือไซยาไนด์ที่เป็นพิษ ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยจึงได้เสนอวิธีการตรวจวัดปริมาณไซยาไนด์ในมันสำปะหลังแบบรวดเร็ว ง่าย และมีความไวสูง โดยใช้คอลลอยด์อนุภาคนาโนโลหะคู่ที่มีอนุภาคโลหะเงินเป็นแกนกลางและโลหะทองเป็นเปลือกหุ้ม (Ag@Au core-shell NPs) สำหรับตรวจวัดปริมาณไซยาไนด์ในมันสำปะหลังด้วยวิธีการ

เปรียบเทียบสี โดยคอลลอยด์ของ Ag@Au core-shell NPs ที่สังเคราะห์ขึ้นด้วยวิธีที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมจะมีสีม่วง อนุภาคที่ได้มีรูปร่างเป็นทรงกลมที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 22 nm เมื่อนำ Ag@Au core-shell NPs ที่สังเคราะห์ได้ไปใช้ในการตรวจวัดปริมาณไซยาไนด์ในสารละลาย สีของคอลลอยด์ Ag@Au core-shell NPs จะเปลี่ยนสีจากสีม่วง เป็นสีส้ม สีเหลือง และกลายเป็นสารละลายใสไม่มีสี เมื่อความเข้มข้นของไซยาไนด์เพิ่มขึ้น โดยมีช่วงในการตรวจวัดความเข้มข้นของไซยาไนด์ตั้งแต่ 0-0.8 mM ใช้เวลาในการตรวจวัด 5 นาที ซึ่งเป็นวิธีการตรวจวัดที่สะดวก รวดเร็ว และมีความเป็นพิษน้อยกว่าวิธีที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน เหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการตรวจปริมาณไซยาไนด์ในมันสำปะหลังเพื่อการส่งออกและการจำแนกพันธุ์มันสำปะหลังที่แบ่งออกเป็นพันธุ์หวานและพันธุ์ขมได้

คำสำคัญ: อนุภาคนาโนโลหะคู่ที่มีอนุภาคโลหะเงินเป็นแกนกลางและโลหะทองเป็นเปลือกหุ้ม ไซยาไนด์ การสังเคราะห์สีเขียว การตรวจวัดแบบเปรียบเทียบสี

ABSTRACT

Cassava is considered one of the most important economic crops in Thailand. Cassava roots are the most commonly consumed or processed because of high carbohydrate or starch contents. However, cassavas contain cyanogenic glucosides, which are enzymatically degraded to extremely toxic hydrogen cyanide or cyanide. This work proposed an alternative method for the cyanide detection, which was rapid, simple and highly sensitive, to meet agricultural and industrial demands. Based on a colorimetric sensing for cyanide, the green-synthesized colloidal Ag@Au core-shell nanoparticles (NPs) were transparent purple solution and metallic core-shell NPs had spherical shape with a diameter of approximately 22 nm. When cyanide was added to the Ag@Au core-shell NPs solution, cyanide ion would etch the gold shell followed by the silver core, leading to gradual change of the solution color from purple to orange, yellow, and finally to colorless. The changes of the solution color could be potentially utilized for the colorimetric sensing of cyanide in a range of 0 – 0.8 mM with a detection time within 5 minutes. This study therefore reported a successfully developed cyanide measurement technique that was suitable for utilization in import/export businesses and classification of cassava varieties between sweet and bitter types.

Keywords: Ag@Au core-shell nanoparticle, Cyanide, Green synthesis, Colorimetric detection

บทนำ

มันสำปะหลังถือเป็นพืชอาหารอันดับที่ 5 ที่สำคัญของโลก รองจากข้าวสาลี ข้าวโพด ข้าว และมันฝรั่ง มันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตและเป็นอาหารหลักในกลุ่มประเทศทางซีกโลกตะวันตก เช่น แอฟริกา สหรัฐอเมริกา และแคริบเบียน และมีการบริโภคบ้างในบางส่วนของเอเชีย ดังนั้นเกษตรกรในหลายประเทศจึงนิยมปลูกมันสำปะหลังกันอย่างแพร่หลาย เพราะนอกจากจะใช้บริโภคได้โดยตรงแล้ว มันสำปะหลังยังสามารถแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อื่นได้หลากหลาย เช่น มันเส้น มันอัดเม็ด และแป้งมัน อีกทั้งยังเป็นวัตถุดิบในการผลิตสำหรับภาคอุตสาหกรรมต่าง ๆ ทั้งทางด้านพลังงาน เอทานอล อุตสาหกรรมกาว อุตสาหกรรมอาหารสัตว์ หรือแม้แต่แปรรูปเป็นผงชูรส โดยประเทศกลุ่มที่มีกำลังผลิตสูง ได้แก่ ไนจีเรีย ไทย อินโดนีเซีย บราซิล และสาธารณรัฐประชาธิปไตยคองโก แม้ว่าประเทศไทยจะมีกำลังผลิตมันสำปะหลังอยู่ที่ 11% ของผลผลิตทั้งหมด เป็นอันดับที่ 2 รองจากไนจีเรียที่มีกำลังผลิต 21% (Limsila et al., 2004) แต่ประเทศไทยเป็นประเทศที่ส่งออกผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังมากที่สุดในโลก ทั้งนี้เพราะประเทศที่มีกำลังผลิตสูงประเทศอื่น ๆ นำผลผลิตที่ได้ไปใช้เป็นอาหารของประชาชนภายในประเทศ ในขณะที่ประเทศไทยใช้มันสำปะหลังเพื่อการบริโภคน้อยมากเนื่องจากคนไทยบริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก ดังนั้นมันสำปะหลังที่ผลิตได้ส่วนใหญ่จึงถูกแปรรูปและส่งออก โดยมูลค่าการส่งออกของผลผลิตมันสำปะหลังในปี พ.ศ. 2560 มีมากกว่า 68,000 ล้านบาท (Thai Tapioca Starch Association, 2017) ดังนั้นมันสำปะหลังจึงเป็นหนึ่งในพืชเศรษฐกิจที่สำคัญอย่างยิ่งของประเทศไทย

ในหัวมันสำปะหลังนอกจากจะมีแป้งซึ่งเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตในปริมาณมาก ยังมีส่วนของกรดไฮโดรไซยานิค (hydrocyanic acid หรือ HCN) หรือไซยาไนด์ (cyanide) ที่เป็นพิษอยู่ด้วย โดยจะมีฤทธิ์ต่อระบบหัวใจและทางเดินโลหิต ขัดขวางการนำออกซิเจนเข้าสู่เซลล์ต่าง ๆ ทำให้ปวดศีรษะ อาเจียน หายใจติดขัด ชักกระตุก กล้ามเนื้ออ่อนแรง หายใจลำบาก และอาจเสียชีวิตหากได้รับในปริมาณมาก แต่หากได้รับในปริมาณที่ไม่มากเซลล์จะสามารถเปลี่ยนสารนี้ไปเป็นสารอื่นที่ไม่เป็นพิษได้ และสารนี้สามารถสลายไปเมื่อสัมผัสกับความร้อนในการปรุงหรือแปรรูปเพื่อบริโภค ปริมาณไซยาไนด์ในหัวมันสำปะหลังจะมีมากหรือน้อยแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ ระยะเวลาและสภาวะแวดล้อมในการเจริญเติบโต บางสายพันธุ์อาจพบได้สูงถึง 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักมันสำปะหลังสด (mg HCN/kg weight หรือ ppm) บางสายพันธุ์อาจพบเพียง 10 ppm (Rojanaritphichet, 1989) ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างมากที่จะต้องตรวจวัดปริมาณไซยาไนด์ในผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังเพื่อความปลอดภัยในการผลิตตลอดจนการนำไปบริโภค โดยองค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (Food and Agriculture Organization of the United Nations หรือ FAO) กำหนดให้มีปริมาณไซยาไนด์ได้ไม่เกิน 10 ppm (Li et al., 2016) ดังนั้นกลุ่มบริษัทผู้ผลิตและแปรรูปผลิตภัณฑ์

มันสำปะหลังเพื่อการบริโภคและการส่งออก ไม่ว่าจะเป็นมันเส้น มันอัดเม็ด แป้งมัน มันสด หรือมันต้มแช่แข็ง มีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องตรวจวัดปริมาณไซยาไนด์ ซึ่งหากเป็นโรงงานผลิตแป้งมันขนาดใหญ่อาจทำการตรวจวัดปริมาณไซยาไนด์ตั้งแต่น้ำที่ใช้ในการล้างหัวมันสำปะหลังในแต่ละขั้นตอน แป้งมันที่ได้ ไปจนถึงน้ำเสียที่จะปล่อยออกจากโรงงาน ซึ่งอาจทำการตรวจวัดปริมาณไซยาไนด์เบื้องต้นโดยตรงที่โรงงานหรือทำการส่งตัวอย่างไปใช้บริการจากหน่วยงานภายนอกเพื่อตรวจวัดปริมาณไซยาไนด์เช่นเดียวกับโรงงานหรือผู้ผลิตขนาดเล็ก ซึ่งการตรวจวัดปริมาณไซยาไนด์ในมันสำปะหลังและผลิตภัณฑ์จากมันสำปะหลังในประเทศไทยทำได้โดยใช้วิธีการวิเคราะห์แบบเปรียบเทียบสีซึ่งใช้เอนไซม์เป็นส่วนช่วย (enzymatic colorimetric method) ตามมาตรฐานของ O' Brien ที่จะทำการหาปริมาณไซยาไนด์โดยการสกัดสารตัวอย่างจากผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังในเอทานอล กรดฟอสฟอริก (phosphoric acid หรือ H_3PO_4) และเอนไซม์ลินามาเรส (linamarase) เพื่อย่อยไซยาโนจินิกไกลโคไซด์ (cyanogenic glycoside) ซึ่งเป็นโมเลกุลของไซยาไนด์ที่เชื่อมต่อกับโมเลกุลของแป้ง ก่อนจะทำการใส่สารเคมีที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนสีอย่าง คลอรามีน ที (chloramine T) หรือ ไพริดีน-ไพราโซโลน (pyridine-pyrazolone) และวิเคราะห์ปริมาณไซยาไนด์จากสีของสารละลายตัวอย่าง ซึ่งถือเป็นการใช้เซนเซอร์ทางเคมี (chemosensor) ในการตรวจวัด (Piyachomkwan et al., 2005) แม้ว่า chemosensor จะเป็นวิธีที่มีความไวในการตรวจวัดและมีความจำเพาะสูง แต่มีข้อเสีย คือ chloramine T และ pyridine-pyrazolone มีความเป็นพิษ ซึ่งอาจก่อให้เกิดอาการแพ้ หอบหืด หรือหายใจลำบากเมื่อสูดดมเข้าไป หรือก่อนให้เกิดอาการผิวหนังไหม้อย่างรุนแรงเมื่อสัมผัสเป็นอันตรายต่อผู้ที่ทำการตรวจวิเคราะห์และสิ่งแวดล้อม (Li et al., 2016) ดังนั้นผู้ประกอบการและนักวิทยาศาสตร์ที่ทำหน้าที่ตรวจวัดปริมาณไซยาไนด์ในห้องปฏิบัติการจึงมีความต้องการวิธีการตรวจวัดที่มีความปลอดภัยสูงกว่า ใช้งานง่าย และใช้เวลาในการตรวจวัดน้อย มาทดแทนวิธีการที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน

อนุภาคนาโนโลหะมีสมบัติทางแสงที่ทำให้สีที่มองเห็นเปลี่ยนไปตามขนาดของอนุภาคจากการเกิดปรากฏการณ์เชิงแสงที่เรียกว่า เซอร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์ (surface plasmon resonance หรือ SPR) ซึ่งเป็นปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นบริเวณรอยต่อระหว่างผิวของอนุภาคนาโนโลหะกับตัวกลางของสารตัวอย่างที่เป็นสารไดอิเล็กทริก โดยอิเล็กตรอนที่อยู่บริเวณผิวของอนุภาค (localized plasmon) สามารถสั่นด้วยความถี่ที่สอดคล้องกับความถี่ของสนามไฟฟ้าของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มาตกกระทบ ส่งผลต่อการมองเห็นสี เช่น คอลลอยด์ของอนุภาคนาโนทอง (gold nanoparticles หรือ AuNPs) จะมีสีแดงแทนที่จะเป็นสีเหลืองวาว และคอลลอยด์ของอนุภาคนาโนเงิน (silver nanoparticles หรือ AgNPs) จะมีสีเหลืองแทนที่จะเป็นสีเงินวาว (Smith & Dent, 2005) นอกจากนั้นขนาดของอนุภาคยังมีผลโดยตรงต่อการเห็นสีของคอลลอยด์ ดังนั้นจึงมีหลายงานวิจัยพยายามนำ AuNPs หรือ AgNPs มาใช้ในการ

ตรวจวัดปริมาณไซยาไนด์ในสารตัวอย่างโดยสังเกตสีที่เปลี่ยนแปลงไปด้วยตาเปล่า เนื่องจากไซยาไนด์มีความสามารถในการกัดกร่อน (etching) อนุภาคนาโนโลหะให้มีขนาดเล็กลงผ่านทางการก่อตัวเป็นสารประกอบโลหะไซยาไนด์ (metal-cyanide complex) ส่งผลให้สีของคอลลอยด์เปลี่ยนแปลงไปตามปริมาณไซยาไนด์ในสารตัวอย่าง กล่าวคือ เมื่อความเข้มข้นของไซยาไนด์เพิ่มมากขึ้น คอลลอยด์ของ AgNPs จะเปลี่ยนสีจากสีเหลือง ค่อย ๆ จางลง จนกระทั่งเป็นสารละลายที่ใสไม่มีสี สำหรับคอลลอยด์ของ AuNPs จะเปลี่ยนสีจากสีแดง ค่อย ๆ จางลง จนกระทั่งเป็นสารละลายที่ใสไม่มีสี (Panigrahi et al., 2005; Zeng et al., 2014) ซึ่งจะเห็นได้ว่าการเปลี่ยนสีที่เกิดขึ้นนี้เป็นเพียงการเปลี่ยนสีในโทนสีเดียว จึงยากที่จะบอกปริมาณไซยาไนด์ที่ทำการตรวจวัดจากการสังเกตสีด้วยตาเปล่า ดังนั้นหากใช้อนุภาคนาโนโลหะคู่ (bimetallic) ในลักษณะที่มีโลหะชนิดหนึ่งเป็นแกนกลางและโลหะอีกชนิดเป็นเปลือกหุ้ม (core-shell nanoparticles) การเปลี่ยนสีของคอลลอยด์ดังกล่าวยังคงสัมพันธ์กับการเกิด SPR ของอนุภาค การเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนระหว่างชั้นเปลือกหุ้มและแกนกลาง (core-to-shell ratio) เพียงเล็กน้อยจะส่งผลต่อการมองเห็นสีที่เปลี่ยนแปลงไปของคอลลอยด์ได้อย่างชัดเจน และสามารถเปลี่ยนสีได้หลายโทนสีมากกว่าการใช้อนุภาคจากโลหะเพียงชนิดเดียว

หลายปีที่ผ่านมาได้มีนักวิจัยทำการสังเคราะห์อนุภาคนาโนโลหะคู่ที่มีอนุภาคโลหะทองเป็นแกนกลางและโลหะเงินเป็นเปลือกหุ้ม (Au@Ag core-shell NPs) (Zeng et al., 2014) เพื่อใช้ในการตรวจวัดปริมาณไซยาไนด์แบบเปรียบเทียบสี โดยเริ่มต้นสีของคอลลอยด์ Au@Ag core-shell NPs จะมีสีเหลืองเนื่องจาก SPR ของชั้นโลหะเงินที่เป็นเปลือกหุ้ม และเมื่อมีการสัมผัสกับไซยาไนด์ ชั้นโลหะเงินที่เป็นเปลือกหุ้มจะถูกละลาย ทำให้เกิดการเปลี่ยนสีจากสีเหลืองไปสู่สีแดงเนื่องจาก SPR ของชั้นโลหะทองที่เป็นแกนกลาง และหากไซยาไนด์มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น แกนกลางที่เป็นอนุภาคโลหะทองจะถูกละลายต่อไปจนกระทั่งกลายเป็นสารประกอบโลหะไซยาไนด์จนหมด ทำให้เกิดการเปลี่ยนสีจากสีแดงเป็นใสไม่มีสี การเปลี่ยนสีในลักษณะนี้ทำให้ง่ายต่อการระบุปริมาณไซยาไนด์ที่ทำการตรวจวัดได้ด้วยตาเปล่า เพราะเกิดการเปลี่ยนสีได้มากถึง 2 โทนสีด้วยกัน อย่างไรก็ตามการใช้โลหะเงินเป็นเปลือกหุ้มอาจทำให้เกิดการออกไซด์ระหว่างน้ำและชั้นโลหะเงินที่เป็นเปลือกหุ้มของ Au@Ag core-shell NPs ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้ทำการสังเคราะห์อนุภาคนาโนโลหะคู่ที่มีอนุภาคโลหะเงินเป็นแกนกลางและโลหะทองเป็นเปลือกหุ้ม (Ag@Au core-shell NPs) เพื่อป้องกันการเกิดออกไซด์ ทำให้คอลลอยด์มีความคงทน และมีเสถียรภาพมากขึ้น อีกทั้งการใช้ Ag@Au core-shell NPs ยังทำให้คอลลอยด์เกิดการเปลี่ยนโทนสีได้มากกว่าการใช้ Au@Ag core-shell NPs โดยนำหลักของเคมีสีเขียว (green chemistry) ที่เลือกใช้กระบวนการที่ปลอดภัยและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (Sharma et al., 2009; Williams, 2001) มาใช้ในการสังเคราะห์ Ag@Au core-shell NPs สำหรับนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดปริมาณไซยาไนด์ในมันสำปะหลังแบบเปรียบเทียบสี

วิธีการ

การทดลองในงานวิจัยนี้แบ่งออกเป็น 2 ตอน คือ 1) การสังเคราะห์คอลลอยด์ของ Ag@Au core-shell NPs ด้วยวิธีที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม (green synthesis) และการวิเคราะห์สมบัติทางแสงและสมบัติทางกายภาพของ Ag@Au core-shell NPs ที่สังเคราะห์ขึ้น และ 2) การตรวจวัดปริมาณไซยาไนด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ แบบเปรียบเทียบสีโดยใช้การเปลี่ยนสีของ Ag@Au core-shell NPs โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

1. **การสังเคราะห์ Ag@Au core-shell NPs ด้วยวิธีที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม**

ในการสังเคราะห์คอลลอยด์ของ Ag@Au core-shell NPs นั้น ขั้นตอนแรกต้องทำการสังเคราะห์ AgNPs เพื่อใช้เป็นแกนกลางของอนุภาคนาโนโลหะคู่ หลังจากนั้นจึงสังเคราะห์ชั้นของโลหะทองเปลือกหุ้มเพื่อให้เกิดเป็น Ag@Au core-shell NPs ในการสังเคราะห์ AgNPs ทำได้โดยนำสารละลาย $AgNO_3$ (Poch) ความเข้มข้น 1 mM ผสมกับสารละลายสตาร์ช (Ajax) 1%w/v และสารละลายน้ำตาลมอลโทส (Sigma-Aldrich) ความเข้มข้น 0.5 M ในอัตราส่วน 1:1:1 แล้วทำการเติมสารละลาย NaOH จนกระทั่ง pH ของสารผสมเท่ากับ 8 หลังจากนั้นจึงนำสารผสมที่ได้มาเร่งปฏิกิริยาด้วยความร้อนจากคลื่นไมโครเวฟ (Samsung, ME711K) ความถี่ 2,450 MHz กำลังไฟฟ้าเท่ากับ 800 W เป็นเวลา 3 นาที จะได้ AgNPs สำหรับใช้เป็นแกนกลางของอนุภาคนาโนโลหะคู่

สำหรับการสังเคราะห์ Ag@Au core-shell NPs นั้น ทำได้โดยนำคอลลอยด์ของ AgNPs ผสมกับสารละลายน้ำตาลมอลโทสความเข้มข้น 0.5 M และสารละลาย $HAuCl_4$ ความเข้มข้น 1 mM ในอัตราส่วน 2:1:0.5 แล้วกวนสารผสมต่อเนื่องเป็นเวลา 6 ชั่วโมง และนำคอลลอยด์ที่ได้ไปวิเคราะห์สีและค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวิสิเบิลสเปกโตรมิเตอร์ (Avantes, Avaspec-EDU) และวิเคราะห์ขนาดและรูปร่างของอนุภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (JEOL, JEM-2100)

2. **การตรวจวัดปริมาณไซยาไนด์โดยใช้ Ag@Au core-shell NPs**

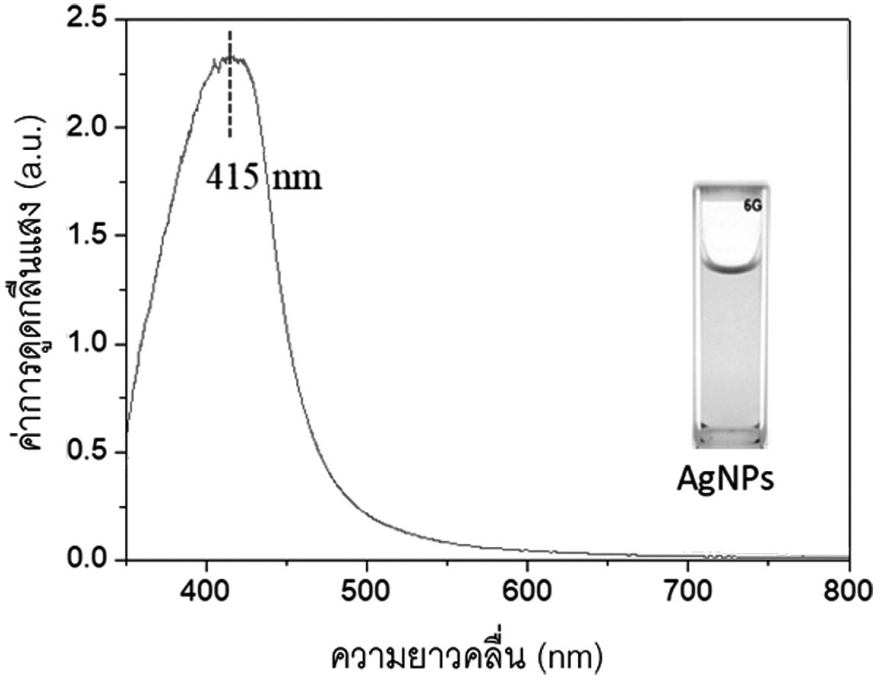
ในการตรวจวัดปริมาณไซยาไนด์ในสารละลายโดยใช้ Ag@Au core-shell NPs ด้วยวิธีการเปรียบเทียบสีนั้น ขั้นตอนแรกจะทำการหาเวลาในการตรวจวัดที่เหมาะสมก่อน โดยใส่สารละลายไซยาไนด์มาตรฐานที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.4, 0.5, 0.6 และ 0.8 mM ลงในคอลลอยด์ของ Ag@Au core-shell NPs ที่สังเคราะห์ได้ ในอัตราส่วน 1:1 แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงทุก ๆ 1 นาที เป็นเวลา 10 นาที เพื่อทำการหาเวลาในการตรวจวัดที่เหมาะสม โดยพิจารณาจากความสัมพันธ์ระหว่างค่าการลดลงของค่าการดูดกลืนแสงที่ตำแหน่ง 500 nm ของคอลลอยด์ Ag@Au core-shell NPs (เมื่อถูกเติมด้วยสารละลายไซยาไนด์มาตรฐานความเข้มข้นต่าง ๆ) กับเวลาในการทำปฏิกิริยา เมื่อทราบเวลาในการตรวจวัดที่เหมาะสมแล้ว หลังจากนั้นจึงนำคอลลอยด์ของ Ag@Au core-shell NPs มาเป็นตัวตรวจวัดปริมาณไซยาไนด์

โดยผสมสารละลายไซยาไนด์ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 และ 0.8 mM กับคอลลอยด์ของ Ag@Au core-shell NPs ในอัตราส่วน 1:1 เป็นระยะเวลาเท่ากับเวลาในการตรวจวัดที่เหมาะสม แล้วสังเกตสีที่เปลี่ยนแปลงไปพร้อมทั้งวัดค่าดูดกลืนแสง

ผลการทดลองและวิจารณ์

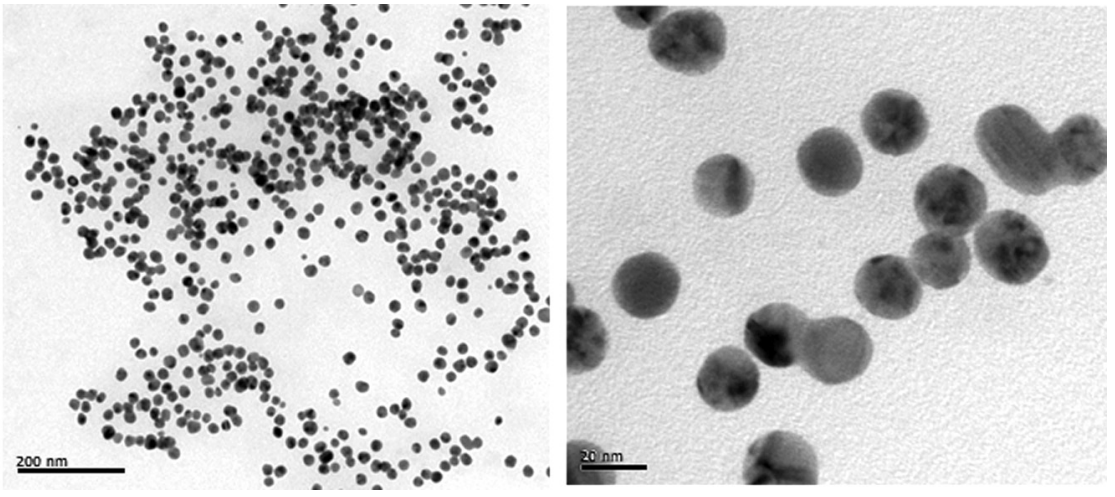
1. ผลการสังเคราะห์ Ag@Au core-shell NPs ด้วยวิธีที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

ในการทดลองได้ทำการสังเคราะห์ Ag@Au core-shell NPs ด้วยวิธีที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม โดยใช้สารละลายน้ำตาลมอลโทสทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์ (reducing agent) และสารละลายสตาร์ชทำหน้าที่เป็นสารที่ทำให้คงตัว (stabilizing agent หรือ stabilizer) และใช้ความร้อนจากไมโครเวฟเป็นตัวเร่งในการเกิดปฏิกิริยา โดยโมเลกุลของน้ำจะดูดกลืนพลังงานจากไมโครเวฟผ่านกระบวนการที่เรียกว่า การให้ความร้อนแบบไดอิเล็กทริก (dielectric heating) โมเลกุลที่มีขั้วจะเกิดการหมุนตามทิศการโพลาไรซ์ของสนามไฟฟ้าของไมโครเวฟ และเกิดการเสียดสีจนเกิดความร้อนขึ้น ซึ่งทำให้มีการกระจายความร้อนทั่วทั้งสารละลายอย่างต่อเนื่องและคงตัว (Phetsahai et al., 2016) จากการทดลองพบว่าเมื่อนำสารผสมระหว่างสารละลาย $AgNO_3$ สตาร์ช และน้ำตาลมอลโทส มาให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ 800 W เป็นเวลา 3 นาที พบว่าสารละลายจะเปลี่ยนจากใสไม่มีสีเป็นสีเหลืองโดยมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด



รูปที่ 1 สีและสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ AgNPs

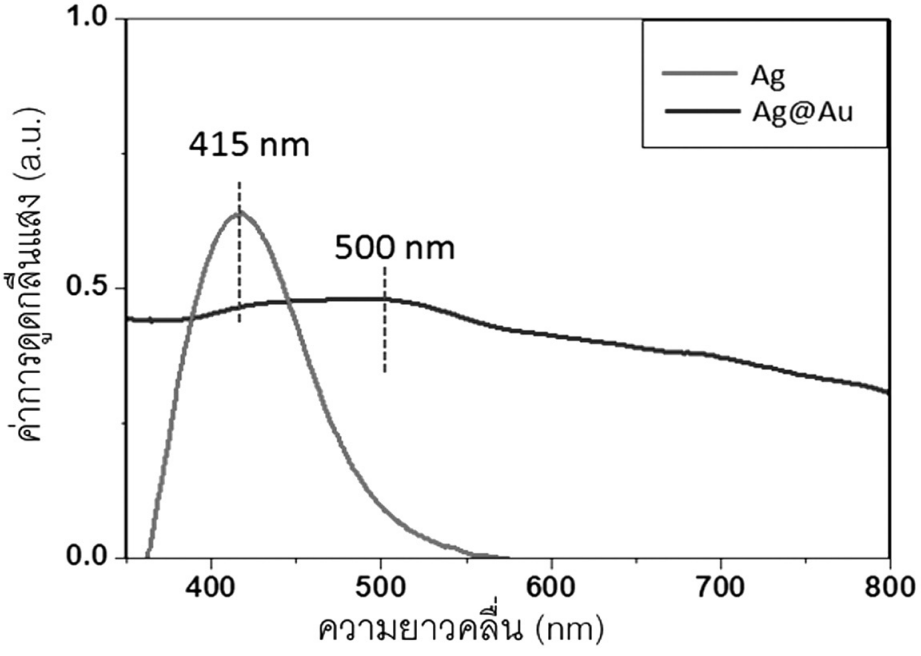
ที่ความยาวคลื่น (λ_{max}) เท่ากับ 415 nm ซึ่งอยู่ในย่านสีน้ำเงิน จึงทำให้เห็นสารละลายมีสีเหลือง ตามหลักการวงล้อสีของแสง ดังแสดงในรูปที่ 1 การเปลี่ยนสีของสารละลายเป็นสีเหลืองนี้ แสดงให้เห็นว่ามี AgNPs เกิดขึ้นตามหลักการ SPR โดย AgNPs เกิดขึ้นเนื่องจาก $AgNO_3$ ที่ละลายในน้ำแตกตัวเป็น Ag^+ และหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) ในโมเลกุลของมอลโทส จะรีดิวซ์ Ag^+ ให้กลายเป็น Ag^0 ซึ่งก็คือ AgNPs นั่นเอง (Phetsahai et al., 2016)



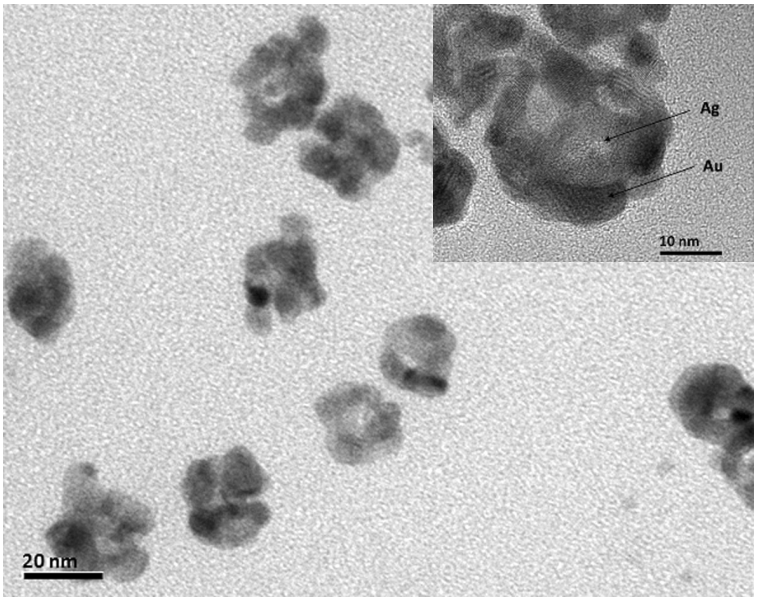
รูปที่ 2 ภาพถ่ายของ AgNPs จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน

รูปที่ 2 แสดงภาพถ่ายของ AgNPs ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน พบว่า AgNPs มีลักษณะเป็นทรงกลมสม่ำเสมอและไม่เกาะกลุ่มกันซึ่งเป็นผลมาจากการเติมสารละลายสตาร์ชที่ป้องกันการรวมตัวกันของอนุภาค และ AgNPs มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยเท่ากับ 22.3 ± 0.1 nm เมื่อนำไปใช้เป็นแกนกลางในการสังเคราะห์ Ag@Au core-shell NPs ผลการทดลองพบว่าเมื่อเติมสารละลาย $HAuCl_4$ ลงในคอลลอยด์ของ AgNPs ทำให้สารละลายเกิดการเปลี่ยนสีเป็นสีจากสีเหลืองของ AgNPs เป็นสีม่วงอย่างรวดเร็ว ดังแสดงในรูปที่ 3 โดยสีม่วงที่เห็นเป็นผลจากการเกิดปรากฏการณ์ SPR ของทองที่เป็นเปลือกหุ้ม เมื่อนำคอลลอยด์ของ Ag@Au core-shell NPs ที่สังเคราะห์ได้มาวิเคราะห์สเปกตรัมการดูดกลืนแสง ผลที่ได้แสดงดังรูปที่ 4 พบว่าค่า λ_{max} มีค่ามากขึ้น โดยเปลี่ยนจาก 415 nm ของคอลลอยด์ AgNPs ไปเป็น 500 nm ซึ่งสอดคล้องกับการเกิดปรากฏการณ์ SPR ของทองที่เป็นเปลือกหุ้ม

รูปที่ 3 สีของคอลลอยด์ของ Ag@Au core-shell NPs



รูปที่ 4 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ Ag@Au core-shell NPs



รูปที่ 5 ภาพถ่ายของ Ag@Au core-shell NPs
จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน

จากภาพถ่ายของ Ag@Au core-shell NPs ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน ดังแสดงในรูปที่ 5 แสดงให้เห็นว่าอนุภาคมีเปลือกหุ้มที่เป็นสีเข้มของโลหะทองและมีแกนกลางที่มีสีอ่อนกว่าของโลหะเงิน ซึ่งแสดงให้เห็นถึงลักษณะที่เป็น core-shell NPs และพบว่ารูปร่างของอนุภาคมีลักษณะเป็นทรงกลม โดย Ag@Au core-shell NPs ที่สังเคราะห์ขึ้นมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาคเฉลี่ยประมาณ 22.2 nm ซึ่งชั้นของโลหะทองที่เป็นเปลือกหุ้มที่เคลือบอยู่บนผิว AgNPs เกิดจากการทำปฏิกิริยากันระหว่างสาร 2 กลุ่มด้วยกัน โดยกลุ่มที่ 1 เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซีส (hydrolysis reaction) และปฏิกิริยารีดอกซ์ (redox reaction) ระหว่าง $HAuCl_4$ กับหมู่ไฮดรอกซิลในน้ำตาลมอลโทส ทำให้เกิดเป็น AuCl ดังแสดงในสมการที่ (1) จากนั้น AuCl จะเกิดปฏิกิริยาดิสพรอพพอชันเนชัน (disproportionation reaction) ต่อไปเป็น Au^0 ดังแสดงในสมการที่ (2)

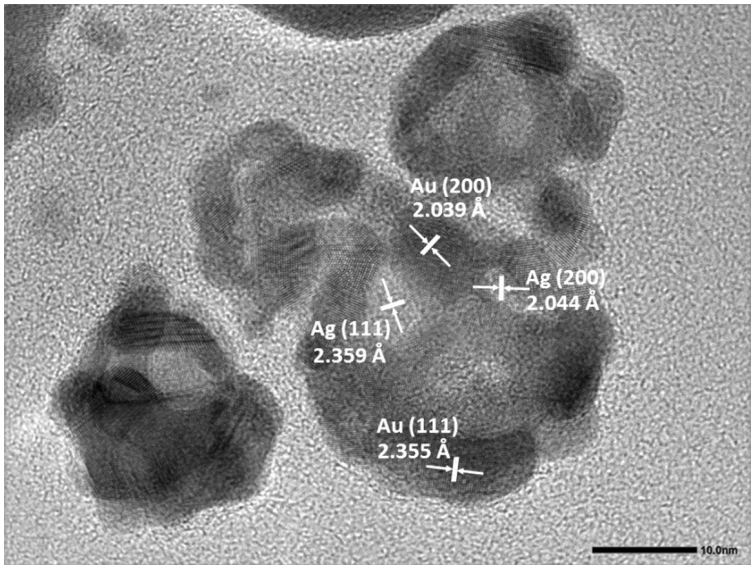
$$AuCl^{4-} \longrightarrow AuCl \quad (1)$$

$$3AuCl \longrightarrow 2Ag^0 + AuCl_3 \quad (2)$$

และกลุ่มที่ 2 เกิดจากปฏิกิริยากัลวานิกระหว่างสารละลาย $HAuCl_4$ และ AgNPs ซึ่งได้ผลลัพธ์เป็น Au^0 เช่นกัน (Wanga et al., 2016) ดังแสดงในสมการที่ (3)

$$3Ag^0 + AuCl_4^- \longrightarrow Au^0 + 3Ag^+ + 4Cl^- \quad (3)$$

โดยการเกิดปฏิกิริยากันของ $HAuCl_4$ และ AgNPs เป็นสาเหตุที่ทำให้ Ag@Au core-shell NPs มีขนาดอนุภาคเล็กกว่าขนาดของ AgNPs ที่เป็นแกนกลาง



รูปที่ 6 ภาพถ่าย HRTEM ของ Ag@Au core-shell NPs

รูปที่ 6 แสดงภาพถ่ายของ Ag@Au core-shell NPs ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านความละเอียดสูง (high-resolution electron microscope หรือ HRTEM) ชี้ให้เห็นถึงระยะห่างระหว่างระนาบ (d-spacing) ของบริเวณแกนกลางที่มีสีอ่อนกว่าของผลึกโลหะเงิน และเปลือกหุ้มที่เป็นสีเข้มของผลึกโลหะทอง โดยระยะห่างระหว่างระนาบของผลึกโลหะเงินที่วัดได้มีค่าเท่ากับ 2.359 Å และ 2.044 Å ตรงกับระนาบ (111) และ (200) ของฐานข้อมูลของ JCPDS หมายเลข 00-004-0783 ตามลำดับ ซึ่งเป็นโครงสร้างผลึกของโลหะเงินที่มีโครงสร้างเป็นแบบ FCC และระยะห่างระหว่างระนาบของผลึกโลหะทองที่เป็นเปลือกหุ้มมีค่าเท่ากับ 2.355 Å และ 2.039 Å ตรงกับระนาบ (111) และ (200) ของฐานข้อมูลของ JCPDS หมายเลข 00-004-0784 ตามลำดับ ซึ่งเป็นโครงสร้างผลึกของโลหะทองที่มีโครงสร้างเป็นแบบ FCC สามารถยืนยันได้ว่าอนุภาคที่สังเคราะห์ได้มีลักษณะการเป็น Ag@Au core-shell NPs

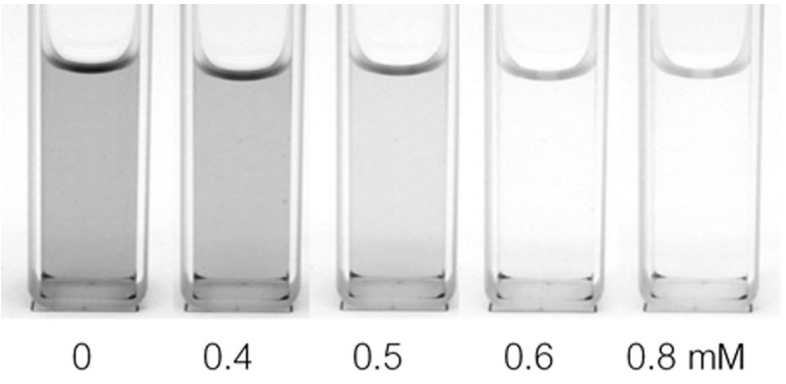
2. ผลการตรวจวัดปริมาณไซยาไนด์โดยใช้ Ag@Au core-shell NPs

เนื่องจากไซยาไนด์มีความสามารถในการละลายโลหะผ่านทางการก่อตัวเป็นสารประกอบโลหะไซยาไนด์ จึงสามารถใช้คอลลอยด์ของ Ag@Au core-shell NPs ที่สังเคราะห์ได้จากตอนที่ 1 เป็นตัวตรวจวัดปริมาณไซยาไนด์แบบเปรียบเทียบสีได้จากการเกิด SPR ของอนุภาคเมื่อไซยาไนด์ละลายชั้นโลหะทองที่เป็นเปลือกหุ้มและชั้นโลหะเงินที่เป็นแกนกลางตามลำดับ โดยกลไกในการตรวจวัดขึ้นอยู่กับ 2 ปฏิกิริยา ดังแสดงในสมการที่ (4) และ (5)

$$4Au + 8\,CN^- + 2H_2O + O_2 \longrightarrow 4[Au(CN)_2]^- + 4OH^- \quad (4)$$

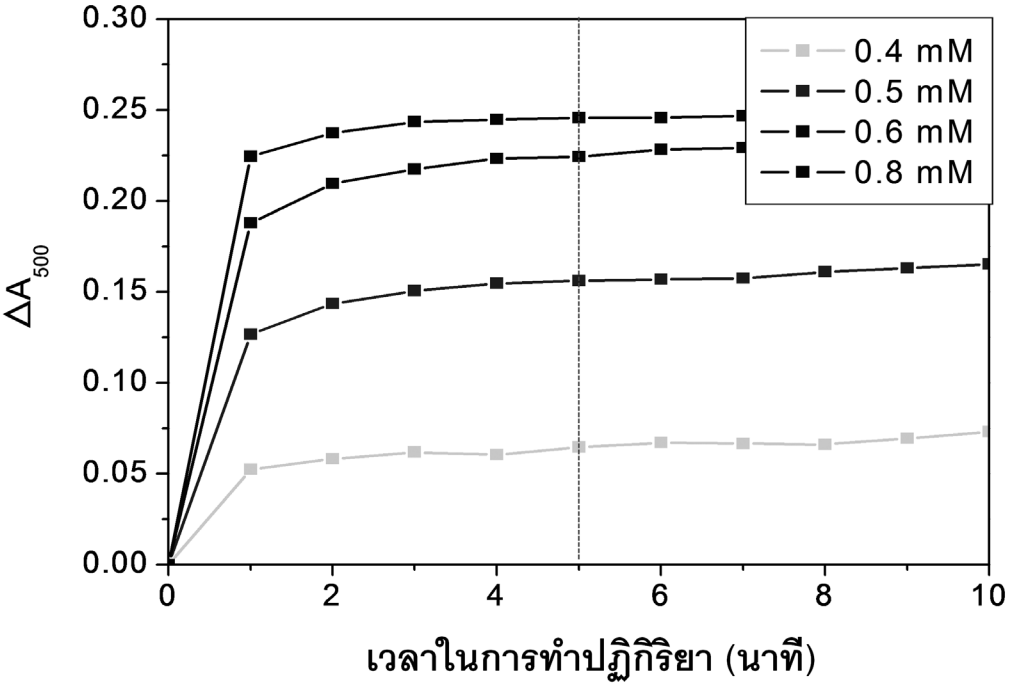
$$4Ag + 8\,CN^- + 2H_2O + O_2 \longrightarrow 4[Ag(CN)_2]^- + 4OH^- \quad (5)$$

จากสมการที่ (4) - (5) แสดงให้เห็นว่าไซยาไนด์สามารถละลายโลหะทองและโลหะเงินภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน ซึ่งการเกิดปฏิกิริยานี้นำไปสู่การเปลี่ยนแปลง core-to-shell ratio ของอนุภาค ก่อให้เกิดการเปลี่ยนสีและการเปลี่ยนแปลงรูปแบบสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของคอลลอยด์ Ag@Au core-shell NPs

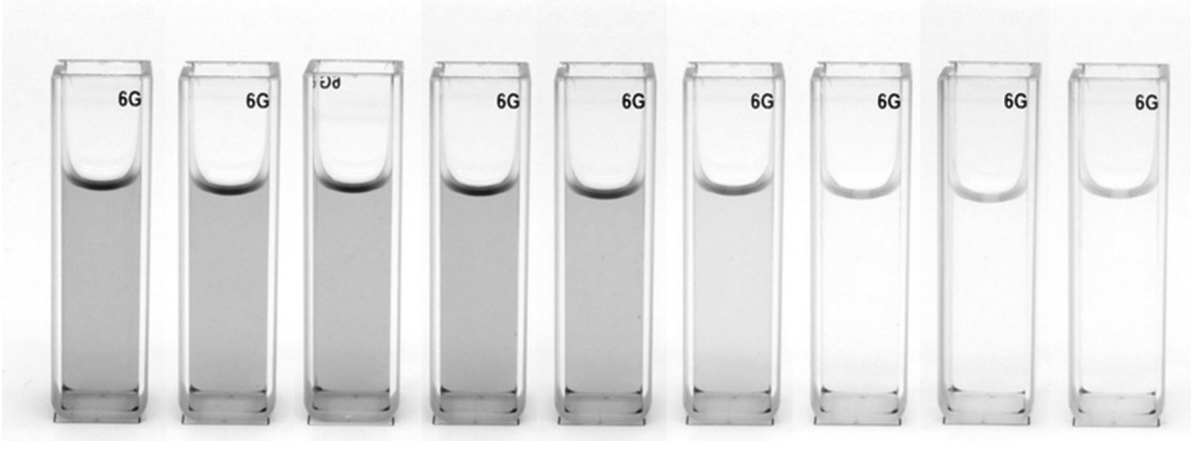


รูปที่ 7 การเปลี่ยนสีของคอลลอยด์ Ag@Au core-shell NPs เมื่อถูกเติมด้วยสารละลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ในการตรวจวัดปริมาณไซยาไนด์แบบเปรียบเทียบสีด้วยวิธีดังกล่าว ขั้นตอนแรกต้องทำการหาเวลาที่ปฏิกิริยาสิ้นสุดซึ่งเป็นเวลาที่ใช้ในการตรวจวัด (detection time) โดยใส่สารละลายไซยาไนด์มาตรฐานความเข้มข้นเท่ากับ 0.4, 0.5, 0.6 และ 0.8 mM ลงในคอลลอยด์ Ag@Au core-shell NPs ในอัตราส่วน 1 : 1 ผลการทดลองพบว่าสีของคอลลอยด์เปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีส้ม สีเหลือง และใสไม่มีสีอย่างรวดเร็วตามความเข้มข้นของสารละลายไซยาไนด์ ดังแสดงในรูปที่ 7 ทั้งนี้ค่า λ_{max} ของ Ag@Au core-shell NPs ที่ตำแหน่งความยาวคลื่นเท่ากับ 500 nm มีค่าลดลง พร้อมทั้งเกิดการเลื่อนไปทางแสงสีน้ำเงิน (blue-shift) คือเลื่อนจาก 500 nm ไปเป็น 400 nm จึงสามารถใช้การลดลงของค่าการดูดกลืนแสงที่ตำแหน่ง 500 nm เพื่อบอกเวลาสิ้นสุดการเกิดปฏิกิริยาซึ่งเป็นเวลาในการตรวจวัดที่เหมาะสมได้ รูปที่ 8 แสดงให้เห็นว่าคอลลอยด์ Ag@Au core-shell NPs และสารละลายไซยาไนด์สามารถทำปฏิกิริยากันโดยสมบูรณ์ที่เวลา 4 นาที สังเกตได้จากความชันของกราฟมีค่าคงที่ แต่เพื่อความมั่นใจว่าปฏิกิริยาได้สิ้นสุดลงแล้วจริง จึงกำหนดให้ detection time ของการตรวจวัดเท่ากับ 5 นาที ดังนั้นจึงสามารถกำหนดเงื่อนไขในการตรวจวัดปริมาณไซยาไนด์แบบเปรียบเทียบสีได้โดยใช้คอลลอยด์ของ Ag@Au core-shell NPs ที่สังเคราะห์ขึ้น โดยใช้อัตราส่วนปริมาตรของคอลลอยด์ต่อสารละลายไซยาไนด์เท่ากับ 1 : 1 และสังเกตสีของสารละลายที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อเวลาในการผสมสารทั้งสองเท่ากับ 5 นาที



รูปที่ 8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการลดลงของค่าการดูดกลืนแสง ที่ตำแหน่ง 500 nm (ΔA_{500}) ของคอลลอยด์ Ag@Au core-shell NPs เมื่อถูกเติมด้วยสารละลายไซยาไนด์มาตรฐานกับเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา



รูปที่ 9 การเปลี่ยนสีของคอลลอยด์ Ag@Au core-shell NPs ที่ใช้ในการตรวจวัดสารละลายไซยาไนด์ ความเข้มข้น 0-0.8 mM เมื่อใช้เวลาในการตรวจวัดเท่ากับ 5 นาที

ผลการตรวจวัดปริมาณไซยาไนด์แบบเปรียบเทียบสีได้โดยใช้คอลลอยด์ของ Ag@Au core-shell NPs แสดงในรูปที่ 9 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเมื่อใส่สารละลายไซยาไนด์ลงในคอลลอยด์ของ Ag@Au core-shell NPs ไซยาไนด์จะทำการละลายชั้นของโลหะทองที่เป็นเปลือกหุ้มให้บางลง จนกระทั่งชั้นของโลหะทองหมดไป เหลือเพียงชั้นของ AgNPs ที่เป็นแกนกลาง และจะละลาย AgNPs ให้มีขนาดที่เล็กลงและหมดไปผ่านทางการก่อตัวเป็นสารประกอบโลหะไซยาไนด์ สีของคอลลอยด์จึงเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีส้ม สีเหลือง และใสไม่มีสี ตามลำดับ การที่เห็นสีของคอลลอยด์เป็นสีส้ม เกิดจากปรากฏการณ์ SPR ของโลหะทองเปลือกหุ้มที่ยังคงเหลือบางส่วน และ SPR ของโลหะเงินแกนกลางบางส่วนที่เผยออกมา จึงมองเห็นสีในลักษณะที่เป็นสีผสมระหว่างสีม่วงของโลหะทองและสีเหลืองของโลหะเงิน ซึ่งสีที่เปลี่ยนแปลงไปที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่านี้ สามารถบอกช่วงความเข้มข้นของไซยาไนด์ในสารละลายที่ต้องการตรวจวัดได้

สรุป

งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าสามารถสังเคราะห์ Ag@Au core-shell NPs โดยใช้วิธีที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมได้ และสามารถนำ Ag@Au core-shell NPs มาประยุกต์ใช้เพื่อตรวจวัดปริมาณไซยาไนด์ในสารละลายโดยใช้วิธีการเปรียบเทียบสีได้ ซึ่งมีช่วงในการตรวจวัดความเข้มข้นของไซยาไนด์ตั้งแต่ 0 - 0.8 mM และใช้เวลาในการตรวจวัดเพียง 5 นาที จัดเป็นวิธีการตรวจวัดที่สะดวก รวดเร็ว และราคาถูก โดยใช้ต้นทุนในการตรวจวัดเพียง 45 บาท/ตัวอย่าง ซึ่งมีราคาต่ำกว่าการซื้อแผ่นตรวจวัดปริมาณไซยาไนด์ในสารละลายที่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศ เหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการตรวจปริมาณไซยาไนด์แทนการใช้สารคลอรามีน ที หรือ ไพริดีน-ไพราโซโลน โดยสีของคอลลอยด์ Ag@Au core-shell NPs จะเปลี่ยนสีจากสีม่วง เป็นสีส้ม สีเหลือง และกลายเป็นสารละลายใสไม่มีสี เมื่อความเข้มข้นของไซยาไนด์เพิ่มขึ้น นอกจากจะใช้เพื่อบอกช่วงความเข้มข้นของไซยาไนด์ได้แล้ว ยังสามารถบอกความปลอดภัยในการผลิตตลอดจนการนำไปบริโภคและจำแนกพันธุ์มันสำปะหลังที่แบ่งออกเป็นพันธุ์หวานและพันธุ์ขมได้ดังนี้ หากสีของสารละลายยังคงเป็นสีม่วงแสดงว่ามีความเข้มข้นของไซยาไนด์ไม่เกิน 0.2 mM นั่นคือมันสำปะหลังหรือผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังที่นำมาตรวจวัดมีปริมาณไซยาไนด์ไม่เกิน 10 ppm สามารถส่งออกได้ตามมาตรฐานของ FAO หากสีของสารละลายเปลี่ยนเป็นสีส้มหรือสีเหลือง แสดงว่ามีความเข้มข้นของไซยาไนด์ไม่เกิน 0.7 mM นั่นคือมันสำปะหลังหรือผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังที่นำมาตรวจวัดมีปริมาณไซยาไนด์ไม่เกิน 50 ppm จัดเป็นมันสำปะหลังพันธุ์หวาน และหากสีของสารละลายเปลี่ยนเป็นสีใส แสดงว่ามีความเข้มข้นของไซยาไนด์มากกว่า 0.7 mM นั่นคือมันสำปะหลังหรือผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังที่นำมาตรวจวัดมีปริมาณไซยาไนด์สูงกว่า 50 ppm จัดเป็นมันสำปะหลังพันธุ์ขม ยิ่งไปกว่านั้นนอกจากจะใช้ Ag@Au core-shell NPs สำหรับตรวจวัดปริมาณไซยาไนด์ในมันสำปะหลังได้แล้ว ยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการ

ตรวจวัดปริมาณไซยาไนด์ในสารละลายต่างๆ เพื่อการควบคุมคุณภาพการผลิตหรือการประเมินคุณภาพแหล่งน้ำได้อีกด้วย

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัย และขอขอบคุณหน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีแปรรูปมันสำปะหลังและแป้ง (Cassava and Starch Technology Research Unit) ที่ก่อตั้งภายใต้ความร่วมมือระหว่างศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (BIOTEC) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และมูลนิธิสถาบันพัฒนามันสำปะหลังแห่งประเทศไทย ที่อนุเคราะห์ให้ข้อมูลและปัญหาที่พบเจอในปัจจุบันเกี่ยวกับการตรวจวัดปริมาณไซยาไนด์

เอกสารอ้างอิง

Li, Y., Wanga, Q., Zhou, X., Wena, C.Y., Yu, J., Hanb, X., Li, X., Yan, Z.F. & Zeng, J. (2016). A convenient colorimetric method for sensitive and specific detection of cyanide using Ag@Au core–shell nanoparticles. **Sensors and Actuators B.** 228(1), 366-372.

Limsila, J., Limsila, A., Jaroenrat, S., Kathong, S., Tongklum, A., Wongkobrat, A., Junkhum, J., Sethasuk, J., Narintaraporn, P. & Thongsri, S. (2004). **Cassava.** 1st Edition. Bangkok: Idea Square Limited Partnership. (in Thai)

Panigrahi, S., Kundu, S., Ghosh, S.K., Nath, S. & Pal. T. (2005). Sugar assisted evolution of mono- and bimetallic nanoparticles. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects.** 264(1-3), 133-138.

Phetsahai, A., Thamaphat, K. & Nuntawong, N. (2016). Green synthesis of colloidal silver nanoparticles for surface-enhanced Raman scattering. **Phranakhon Rajabhat Research Journal (Science and Technology).** 11(1), 116-127. (in thai)

Piyachomkwan, K., Wanlapatit, S., Chotineeranat, S. & Sriroth, K. (2005). Transformation and balance of cyanogenic compounds in the cassava starch manufacturing process. **Starch/Stärke.** 57(2), 71-78.

Rojanaritphichet, J. (1989). **Plant culture, processing industry and utilization of cassava.** 1st Edition. Bangkok: Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Kasetsart University. (in Thai)

Sharma, V.K., Yngard, R.A. & Lin, Y. (2009). Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities. **Advances in Colloid and Interface Science.** 145(1-2), 83-96.

Smith, E. & Dent, G. (2005). **Modern Raman spectroscopy - A practical approach.** West Sussex: John Wiley & Sons.

Thai Tapioca Starch Association (2017). **Exporting tapioca product.** Retrieved April 2, 2017, from http://www.thaitapiocastarch.org/th/information/statistics/export_tapioca_products (in thai)

Williams, I. (2001). **Environmental chemistry: a modular approach.** Chichester: John Wiley & Sons.

Zeng, J.B., Cao, Y.Y., Chen, J.J., Wang, X.D., Yu, J.F., Yu, B.B., Yan, Z.F. & Chen, X. (2014). Au@Ag core/shell nanoparticles as colorimetric probes for cyanide sensing. **Nanoscale.** 6(17), 9939-9943.

.....