

การสังเคราะห์คอลลอยด์อนุภาคนาโนเงินด้วยวิธีที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมสำหรับการตรวจวัด
โดยใช้พื้นผิวขยายสัญญาณรามาน

GREEN SYNTHESIS OF COLLOIDAL SILVER NANOPARTICLES
FOR SURFACE-ENHANCED RAMAN SCATTERING

อภิวัฒน์ เพ็ชรสหาย^{1,2}, เขมฤทัย งามะพัฒน์^{1,2,*} และนพดล นันทวงศ์³

¹ห้องปฏิบัติการสังเคราะห์และการใช้ประโยชน์จากเคมีสีเขียว ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี กรุงเทพฯ 10140

²กลุ่มวิจัยวิทยาศาสตร์ประยุกต์และวิศวกรรมศาสตร์เพื่อคำตอบของสังคม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี กรุงเทพฯ 10140

³กลุ่มวิจัยเทคโนโลยีฟิล์มบางเชิงแสง ศูนย์เทคโนโลยีอิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์แห่งชาติ ปทุมธานี 12120

Apiwat Phetsahai^{1,2}, Kheamrutai Thamaphat^{1,2,*} and Noppadon Nuntawong³

¹Green Synthesis and Application Laboratory, Department of Physics, Faculty of Science,

King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangmod, Bangkok 10140

²Applied Science and Engineering for Social Solution, King Mongkut's University

of Technology Thonburi, Bangmod, Bangkok 10140

³Optical Thin-Film Technology Research Laboratory, National Electronics

and Computer Technology, Patumthani 12120

*Email: s903607@yahoo.com

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้กล่าวถึงการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน (AgNPs) ด้วยวิธีที่รวดเร็วและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และการประยุกต์ใช้ AgNPs สำหรับตรวจวัดโดยใช้พื้นผิวขยายสัญญาณรามาน (SERS) ในการสังเคราะห์ AgNPs จะใช้น้ำตาลมอลโทสเป็นตัวรีดิวซ์และให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ โดยได้ศึกษาผลของค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลาย ต่อขนาดและจำนวนของ AgNPs จากผลการทดลองพบว่า AgNPs ที่สังเคราะห์ได้มีโครงสร้างผลึกแบบลูกบาศก์ มีลักษณะเป็นทรงกลมที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเพิ่มขึ้นเมื่อสารละลายมีสภาพเป็นด่างมากขึ้นเนื่องจากการเติม NaOH และเมื่อนำ AgNPs ที่สังเคราะห์ได้ไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดลักษณะเฉพาะของเมทิลีนบลูโดยใช้พื้นผิวขยายสัญญาณรามาน ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเกาะกลุ่มกันของอนุภาคและปริมาณของ AgNPs เป็นปัจจัยที่มีบทบาทสำคัญต่อความสามารถในการขยายสัญญาณรามาน นอกจากนั้นยังแสดงให้เห็นถึงศักยภาพของ AgNPs ที่เตรียมโดยวิธีที่นำเสนอในงานวิจัยนี้ ว่าเป็นวัสดุที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้เพื่อตรวจวัดสัญญาณของสารอินทรีย์ที่มีความเข้มข้นต่ำด้วยเทคนิค SERS ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำสำคัญ: อนุภาคนาโนเงิน การสังเคราะห์สีเขียว รามานสเปกโตรสโคปี การใช้พื้นผิวขยายสัญญาณรามาน เซอร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์

ABSTRACT

The rapid and green preparation of Ag nanoparticle (AgNPs) and their application for surface-enhanced Raman scattering (SERS) have been described in this work. The AgNPs were synthesized using maltose as a reducing agent and microwave irradiation as a heating method. The effect of pH solution on size and amount of AgNPs was investigated. The results showed that the as-synthesized AgNPs with cubic structure were spherical. The diameter and amount of particle increased with increasing the pH value by adding NaOH. Then, application of as-synthesized AgNPs for SERS technique has been demonstrated through the detection of methylene blue fingerprint. The results indicated that the colloid aggregation and amount of AgNPs play an importance role in SERS intensity. Furthermore, this work demonstrated the potential of AgNPs prepared by green method without adding stabilizer as a powerful material for SERS probing organic substance at trace level with high sensitivity.

Keywords: silver nanoparticles, green synthesis, Raman spectroscopy, surface-enhanced Raman scattering, surface plasmon resonance

บทนำ

รามานสเปกโตรสโคปี (Raman spectroscopy) เป็นเทคนิคทางแสงที่ค้นพบโดย C.V. Raman ในปี ค.ศ. 1928 ใช้ในการวิเคราะห์ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ โดยการพิจารณาความถี่และรูปแบบของการสั่นและการหมุนของโมเลกุล ซึ่งสามารถใช้จำแนกหมู่ฟังก์ชันหรือหมู่อะตอมที่แสดงสมบัติเฉพาะของสารอินทรีย์ พันธะเคมี และโครงสร้างทางเคมีของโมเลกุลได้ (Khandpur, 2006) เทคนิครามานสเปกโตรสโคปีอาศัยปรากฏการณ์การกระเจิงแสงของอนุภาคแบบรามาน กล่าวคือ เมื่อแสงที่มีความยาวคลื่นเดียว (monochromatic light) ความเข้มสูง เช่น ลำแสงเลเซอร์ ผ่านเข้าไปยังตัวกลางโปร่งแสง แสงส่วนใหญ่สามารถผ่านทะลุไปได้มีเพียง 1 ใน 105 เท่านั้น ที่จะตกกระทบบนอนุภาคของสารซึ่งหากอนุภาคมีขนาดเล็กกว่า 10% ของความยาวคลื่นของแสง (พิมล, 2526) จะเกิดการกระเจิงแสงโดยหากแสงที่กระเจิงออกมาจากอนุภาคมีความถี่เท่ากับความถี่ของคลื่นแสงที่มาตกกระทบเรียกว่าการกระเจิงแบบเรย์ลี (Rayleigh scattering) แต่ถ้าแสงที่กระเจิงออกมามีความถี่แตกต่างจากความถี่ของแสงที่มาตกกระทบ เรียกว่าการกระเจิงแบบรามาน (Raman scattering) ซึ่งมีเพียง 1% ของความเข้มแสงที่กระเจิงออกมาทั้งหมด (Khandpur, 2006)

การกระเจิงแบบรามานเกิดจากการชนแบบไม่ยืดหยุ่น (inelastic scattering) ระหว่างโฟตอนของแสงที่ตกกระทบกับโมเลกุลของสาร โดยมีการถ่ายเทพลังงานบางส่วนระหว่างโฟตอนกับโมเลกุล

ดั่งสมการที่ (1)

$$h\nu_1 + E_1 = h\nu_2 + E_2$$

$$\Delta E = h\nu_1 - h\nu_2 = \pm h\Delta\nu \quad (1)$$

เมื่อ ν_1 คือ ความถี่ของแสงที่ตกกระทบ

ν_2 คือ ความถี่ของแสงที่กระเจิงออกมาจากโมเลกุล

E_1 คือ สถานะพลังงานเริ่มต้นของโมเลกุล

E_2 คือ สถานะพลังงานสุดท้ายของโมเลกุลหลังการชนแบบไม่ยืดหยุ่น

และ $\Delta\nu$ คือ ความถี่ของแสงที่เปลี่ยนแปลงไป สอดคล้องกับการเปลี่ยนระดับชั้นพลังงาน

ที่อาจเกิดจากการหมุนหรือการสั่นของโมเลกุล

อันตรกิริยาระหว่างโฟตอนกับโมเลกุลทำให้ความถี่ของแสงเปลี่ยนแปลงไป (Raman shift) โดยอาจเพิ่มขึ้นหรือลดลง ซึ่งโมเลกุลที่ทำให้แสงเกิดการกระเจิงแล้วเกิด Raman shift ได้นั้น สภาพผิวของโมเลกุลจะต้องเปลี่ยนไประหว่างที่โมเลกุลเกิดการสั่น และค่า Raman shift นี้จะให้ข้อมูลเกี่ยวกับรูปแบบของการสั่นของโมเลกุลต่าง ๆ ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะตัวของสารแต่ละชนิด

ปัจจุบันมีการนำเทคนิครามานสเปกโตรสโคปีไปประยุกต์อย่างกว้างขวางในงานด้านต่าง ๆ เช่น พอลิเมอร์ สารกึ่งตัวนำ สี อาหารและยา การวินิจฉัยโรค และนิติวิทยาศาสตร์ โดยสามารถวิเคราะห์สารตัวอย่างที่อยู่ในสถานะของแข็ง ของเหลว หรือแก๊สได้ อย่างไรก็ตามเนื่องจากการกระเจิงแบบรามานเป็นกระบวนการที่มีโอกาสเกิดขึ้นได้น้อยมาก (ภาคตัดขวาง $\sim 10^{-30} \text{ m}^2$) จึงอาจทำให้ไม่สามารถตรวจพบสัญญาณรามานหรือหากตรวจพบได้ก็อาจมีสัญญาณที่ต่ำมาก โดยเฉพาะการตรวจวัดสัญญาณรามานของสารชีวโมเลกุลที่มีปริมาณน้อยๆ (trace concentration) ดังนั้นการเพิ่มภาคตัดขวางของการกระเจิงแบบรามานโดยอาศัยการขยายสนามแม่เหล็กไฟฟ้าซึ่งเป็นผลจากอิเล็กตรอนที่พื้นผิวของอนุภาคนาโนของโลหะในบริเวณใกล้เคียงกับโมเลกุลของสารตัวอย่าง ที่เรียกว่าการตรวจวัดโดยใช้พื้นผิวขยายสัญญาณรามาน (surface-enhanced Raman scattering หรือ SERS) จึงได้รับการคิดค้นและพัฒนาขึ้น (Rodríguez - Fernández et al., 2015) โดย Fleischmann และคณะ ได้ค้นพบผลการขยายพื้นผิว (surface enhancement effect) ในปี ค.ศ. 1974 และต่อมาในปี ค.ศ. 1979 Creighton และคณะ ได้แสดงให้เห็นว่า SERS สเปกโตรสโคปีโดยใช้คอลลอยด์อนุภาคนาโนเงิน ทอง หรือทองแดง สามารถขยายสัญญาณรามานได้ประมาณ 4 - 6 เท่า (White and Hjortkjaer, 2014) โดยพื้นผิวของอนุภาคนาโนเงินที่มีขนาด 20 - 300 nm สามารถขยายสัญญาณรามานได้ดีที่สุด ทั้งนี้ขึ้นกับความยาวคลื่นของแสงที่ตกกระทบด้วย (Zeiri and Efrima, 2005; Sundaram et al., 2013)

ในปี ค.ศ. 2005 สมาคมเคมี (The Royal Society of Chemistry) ได้จัดการประชุมเรื่อง SERS ขึ้นเป็นครั้งแรก ในงานประชุมได้กล่าวถึงความล้มเหลวในการสังเคราะห์คอลลอยด์โลหะเพื่อใช้ในเทคนิค SERS เพราะขาดเสถียรภาพและความสามารถในการสังเคราะห์ซ้ำได้ ดังนั้นในช่วงหลายปีที่ผ่านมา นักวิจัยจึงได้พยายามสังเคราะห์คอลลอยด์เงินเพื่อใช้เป็นพื้นผิวสำหรับ SERS

สเปกโตรสโคปี โดยวิธีที่นิยมมากที่สุด คือ การรีดิวซ์ AgNO_3 (silver nitrate) ด้วย NaBH_4 (sodium borohydride) อย่างไรก็ตามพบว่าคอลลอยด์เงินที่สังเคราะห์ได้ไม่มีความเสถียร (Lee และ Meisel, 1982) จึงได้มีการใช้ $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7$ (sodium citrate) เป็นตัวรีดิวซ์แทน แม้ว่าการใช้ $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7$ จะสามารถแก้ปัญหาเรื่องเสถียรภาพได้ แต่ก็ยากที่จะสังเคราะห์ให้ได้ประสิทธิภาพเช่นเดิมหากทำการสังเคราะห์ซ้ำหลาย ๆ ครั้ง (White และ Hjortkjaer, 2014) การสังเคราะห์ที่อาศัยกระบวนการเคลือบสาร (encapsulated) จึงถูกพัฒนาขึ้น (Sundaram et al., 2013; Huo et al., 2013; Xie et al., 2012) แม้ว่าจะมีประสิทธิภาพในการขยายสัญญาณรามานได้ดีและมีเสถียรภาพสูง แต่มีขั้นตอนในการสังเคราะห์ที่ยุ่งยาก ใช้เวลานาน และใช้สารเคมีหลายชนิด ซึ่งบางครั้งเป็นสารเคมีที่เป็นพิษ ส่งผลต่อผู้สังเคราะห์และสิ่งแวดล้อม และยังเป็น การสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายอีกด้วย ดังนั้นในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยจึงมุ่งเน้นหาวิธีในการสังเคราะห์คอลลอยด์อนุภาคนาโนเงินที่มีเสถียรภาพ สังเคราะห์ได้ง่ายและรวดเร็ว ไม่ใช้สารเคมีที่เป็นอันตราย และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในเทคนิค SERS ได้เป็นอย่างดี

วิธีการ

การทดลองในงานวิจัยนี้แบ่งออกเป็น 2 ตอน คือ 1) การสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินด้วยวิธีที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม (green synthesis) และการวิเคราะห์สมบัติทางแสงและสมบัติทางกายภาพของอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ขึ้น และ 2) การนำไปประยุกต์ใช้กับเทคนิค SERS โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

1. การสังเคราะห์และวิเคราะห์อนุภาคนาโนเงินด้วยวิธีที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

การสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินด้วยวิธีที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมจะใช้สารละลายเกลือของเงิน AgNO_3 เป็นแหล่งของ Ag^+ และใช้สารละลายน้ำตาลมอลโทส ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$) เป็นตัวรีดิวซ์ โดยนำสารละลาย AgNO_3 (Poch) ความเข้มข้น 1 mM ผสมกับสารละลายน้ำตาลมอลโทส (Sigma-Aldrich) ความเข้มข้น 0.1 M ในอัตราส่วน 1:2 หลังจากนั้นทำการปรับ pH ของสารละลายให้มีค่าเท่ากับ 4 และ 8 โดยใช้กรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 0.1 M และโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.1 M แล้วนำเข้าเครื่องไมโครเวฟ (2.45 GHz) ที่มีกำลังไฟฟ้า 800 W เป็นเวลา 3 min ซึ่งเมื่อวิเคราะห์ด้วยกล้องถ่ายภาพความร้อน (Fluke, Ti32) พบว่าสารละลายมีอุณหภูมิ 87 °C โดยสีของสารละลายจะเปลี่ยนจากใสไม่มีสีเป็นสีเหลืองอ่อนถึงเหลืองเข้ม ขึ้นกับค่า pH ของสารละลาย ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาผลของค่า pH ของสารละลาย (ไม่ปรับ pH, pH = 4 และ pH = 8) ต่อความเข้มในการดูดกลืนแสงในช่วงคลื่นที่ตามองเห็นได้ ปริมาณ และขนาดของอนุภาคนาโนเงิน

ในการวิเคราะห์ความเข้มในการดูดกลืนแสงทำได้โดยนำคอลลอยด์อนุภาคนาโนเงินปริมาตร 4 ml ใส่ลงในคิวเวทที่มีระยะความยาวสำหรับทางเดินของแสง 1 cm แล้วบันทึกสเปกตรัมการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 300 - 750 nm โดยใช้เครื่องวิสเปกโตรมิเตอร์ (Avantes, Avaspec - EDU) สำหรับการวิเคราะห์ขนาดของอนุภาคนาโนเงินทำได้โดยหยดคอลลอยด์ที่เตรียมได้ลงบนแผ่นคาร์บอนที่มีตาข่ายทองแดงขนาด 600 mesh แล้วทิ้งไว้ให้แห้ง หลังจากนั้น นำไปถ่ายภาพ

อนุภาคนาโนเงินและรูปแบบการเลี้ยวเบนของอิเล็กตรอนด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (JEOL, JEM - 2100) นอกจากนั้นยังได้ทำการวิเคราะห์โครงสร้างผลึกของอนุภาคนาโนเงินด้วยเครื่องมือวิเคราะห์การเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ (Rigaku, TTRAX III) โดยใช้รังสีเอกซ์ประเภท K_α ที่เกิดจากการใช้ Cu เป็นเป้าหมาย 2θ ในการสแกนเท่ากับ $20-80^\circ$ ความเร็วในการสแกนเท่ากับ $3^\circ (2\theta)$ ต่อนาที และขั้นตอนการสแกนเท่ากับ $0.02^\circ (2\theta)$

2. การตรวจวัดสัญญาณรามานของสีย้อมโดยใช้เทคนิค SERS

หลังจากที่ได้สังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินด้วยวิธีที่ได้กล่าวไว้ในตอนที่ 1 แล้ว ในตอนนี้เป็นการนำอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ขึ้นในสภาวะที่สารละลายมีค่า pH ต่าง ๆ มาศึกษาประสิทธิภาพในการใช้พื้นผิวขยายสัญญาณรามานของสารอินทรีย์ตัวอย่าง คือ เมทิลีนบลู ($C_{16}H_{18}N_3S$) ซึ่งเป็นสีย้อมที่มีประจุพร้อมสำหรับเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ (redox dye) โดยนำเมทิลีนบลูที่มีความเข้มข้น 10^{-4} M ซึ่งไม่สามารถเห็นสัญญาณรามานได้อย่างชัดเจนหากไม่ใช้เทคนิค SERS มาผสมกับคอลลอยด์อนุภาคนาโนเงินในขวดแก้วขนาดเล็ก ในอัตราส่วน 1:1 1:2 1:3 2:1 และ 3:1 ตามลำดับ แล้วหยดสารผสมปริมาตร 5 μ l ลงบนกระจกสไลด์ หลังจากนั้นนำไปวิเคราะห์สัญญาณ SERS ด้วยเครื่องรามานสเปกโตรมิเตอร์ (Enwave Optonics) ความยาวคลื่นของแสงเลเซอร์ที่ใช้ในการกระตุ้นเท่ากับ 532 nm กำลังขยาย 10x แล้วเปรียบเทียบความสามารถในการขยายสัญญาณรามาน (enhancement ratio หรือ ER) โดยใช้สมการที่ (2)

$$ER = \frac{I_S}{I_R} \quad (2)$$

เมื่อ I_S คือ ความเข้มของสัญญาณ SERS ณ ตำแหน่ง Raman shift ของสัญญาณปฐมภูมิ

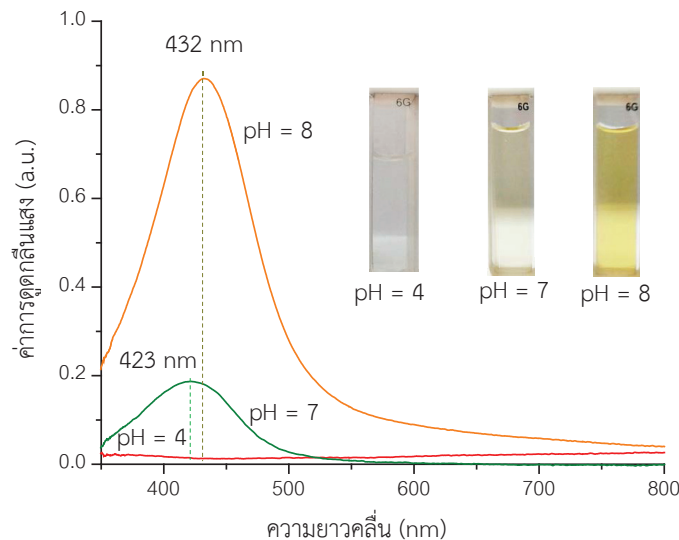
I_R คือ ความเข้มของสัญญาณรามาน ณ ตำแหน่ง Raman shift ของสัญญาณปฐมภูมิ โดยใช้น้ำ ปราศจากไอออนแทนคอลลอยด์อนุภาคนาโนเงิน

ผลการวิจัยและวิจารณ์

1. ผลการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินด้วยวิธีที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

การสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินด้วยวิธีที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมมีหลักการ คือ เลือกใช้ตัวรีดิวซ์และตัวทำละลายที่ไม่ใช่สารเคมีหรือสารมีพิษ (Sharma et al., 2009) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้น้ำตาลมอลโทสที่เป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคส 2 โมเลกุล ต่อกันด้วยพันธะไกลโคไซด์ (glycosidic bond) ที่ตำแหน่งแอลฟา-1,4 เป็นตัวรีดิวซ์ และใช้ความร้อนจากไมโครเวฟเป็นตัวเร่งในการเกิดปฏิกิริยาแทนการให้ความร้อนแบบวิธีการทั่วไป (Lee and Meisel, 1982) ซึ่งใช้ระยะเวลานานและกระจายความร้อนไม่ทั่วถึง โดยไมโครเวฟซึ่งเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่ไม่ทำให้เกิดการไอออไนเซชัน (non-ionizing electromagnetic radiation) เมื่อเดินทางผ่านตัวกลาง โมเลกุลของน้ำ ไขมัน หรือสารอื่น ๆ

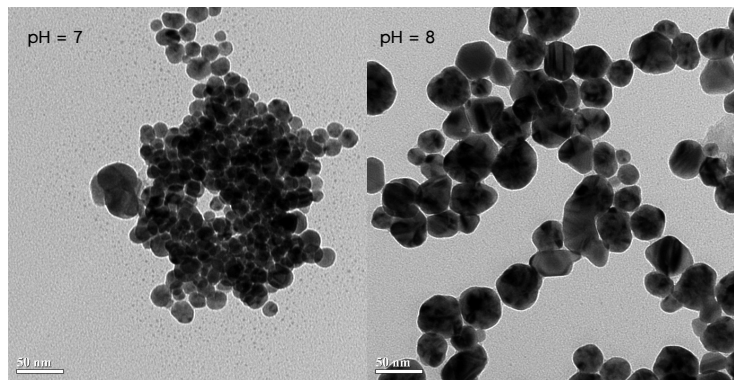
ในตัวกลาง จะดูดกลืนพลังงานจากไมโครเวฟผ่านกระบวนการที่เรียกว่า การให้ความร้อนแบบไดอิเล็กทริก (dielectric heating) กล่าวคือโมเลกุลต่าง ๆ โดยเฉพาะน้ำ เป็นโมเลกุลที่มีขั้ว มีสมบัติเป็นวัสดุไดอิเล็กทริก จะเกิดการหมุนตามทิศการโพลาไรซ์ของสนามไฟฟ้าของไมโครเวฟ และเกิดการเสียดสีจนเกิดความร้อนขึ้น ดังนั้นการให้ความร้อนโดยใช้ไมโครเวฟจึงเป็นวิธีการสังเคราะห์ที่รวดเร็ว สะดวก สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ง่าย และมีการกระจายความร้อนทั่วทั้งสารละลายอย่างต่อเนื่องและคงตัว (Vriezina et al., 2002) จากการทดลองเมื่อนำสารผสมระหว่างสารละลาย AgNO_3 และน้ำตาลมอลโทส มาให้ความร้อนโดยไมโครเวฟ 800 W เป็นเวลา 3 min พบว่า สารละลายจะเปลี่ยนจากใสไม่มีสีเป็นสีเหลืองอ่อนจนถึงเหลืองเข้มขึ้นกับค่า pH ของสารละลาย ดังแสดงในรูปที่ 1



รูปที่ 1 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงและสีของคอลลอยด์อนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ขึ้น
เมื่อค่า pH ของสารละลายมีค่าเป็น 4 7 และ 8

เนื่องจากปรากฏการณ์เซอร์เฟซพลาสมอนเรโซแนนซ์ (surface plasmon resonance หรือ SPR) เป็นปรากฏการณ์เชิงแสงซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะตัวของอนุภาคนาโนของโลหะมีตระกูล (noble metal) เช่น เงิน ทองคำ และทองแดง เกิดจากอันตรกิริยาของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าและอิเล็กตรอนที่พื้นผิวของอนุภาค ในระดับนาโนเมตรที่มีขนาดน้อยกว่าความยาวคลื่นของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า กล่าวคือ เมื่อคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าจากภายนอกตกกระทบบนอนุภาคนาโนของโลหะ อิเล็กตรอนที่อยู่ในแถบการนำไฟฟ้าจะเกิดการสั่นกลับไป - กลับมา (oscillation) ในทิศทางตรงกันข้ามกับทิศการโพลาไรซ์ของสนามไฟฟ้า ซึ่งความถี่ในการสั่นพ้องนี้ จะขึ้นกับชนิดของโลหะ ขนาด รูปร่าง สมบัติไดอิเล็กทริกของสารที่อนุภาคนั้นแขวนลอยอยู่ และระยะห่างระหว่างอนุภาค (Petryayeva and Krull, 2011) ดังนั้นอิเล็กตรอนจะดูดกลืนคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าในช่วงความถี่ที่ตรงกับความถี่ธรรมชาติในการสั่นของอิเล็กตรอน ส่งผลให้อนุภาคนาโนมีสีที่แตกต่างออกไปจากโลหะ

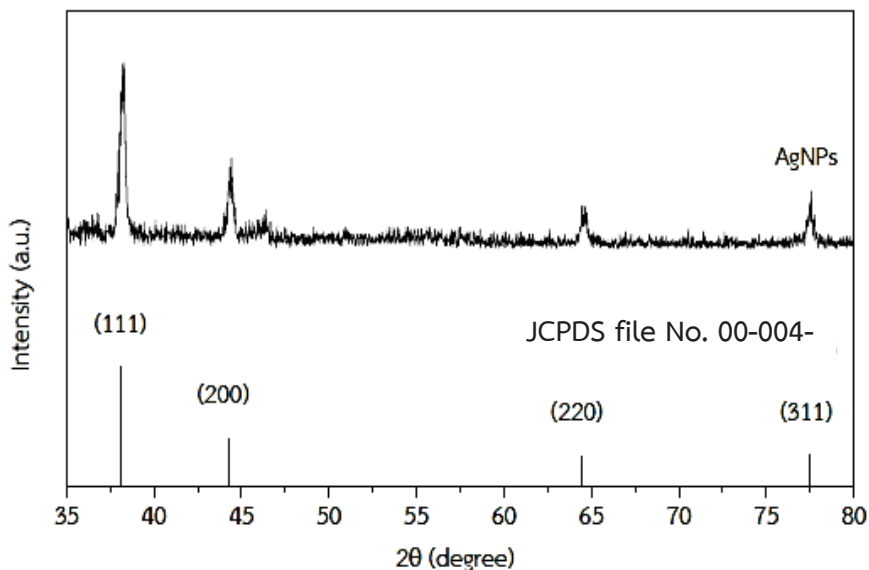
แบบก่อนสมบัติทางแสงของอนุภาคนาโนเงินจึงสามารถวิเคราะห์ได้โดยใช้เทคนิคยูวี - วิสเปสเปกโตรสโคปี โดยความถี่ (หรือความยาวคลื่น) และความเข้มของพลาสมอนพิกส์สัมพันธ์กับขนาดและจำนวนของอนุภาคนาโน กล่าวคือ เมื่อพิจารณาสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของคอลลอยด์ของอนุภาคนาโนของโลหะชนิดเดียวกันที่อยู่ภายใต้สภาวะเดียวกัน ถ้าพลาสมอนพิกส์ปรากฏ ณ ตำแหน่งที่มีความยาวคลื่นมากกว่าแสดงว่าอนุภาคมีขนาดใหญ่กว่า และถ้าความเข้มในการดูดกลืนแสงมากกว่าแสดงว่ามีจำนวนอนุภาคมามากกว่า (Hutter and Fendler, 2004; Slistan-Grijalva et al., 2005; Hammond et al., 2014)



รูปที่ 2 ภาพถ่ายอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการปรับค่า pH (pH = 7) และมีการปรับค่า pH ให้เท่ากับ 8 จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน

จากผลการทดลองในรูปที่ 1 พบว่า ถ้ามีการเติม HCl เพื่อให้ pH ของสารละลายเท่ากับ 4 (มีสภาพเป็นกรด) เมื่อผ่านการเร่งปฏิกิริยาด้วยไมโครเวฟเป็นเวลา 3 min ยังไม่มีอนุภาคนาโนเงินเกิดขึ้น สังเกตได้จากสีของคอลลอยด์ยังคงใสไม่มีสี สอดคล้องกับสเปกตรัมการดูดกลืนแสงที่ยังคงไม่ปรากฏพลาสมอนพิกส์ แต่หากไม่มีการปรับค่า pH (pH ของสารละลายเท่ากับ 7) สีของคอลลอยด์จะเปลี่ยนจากใสไม่มีสีเป็นสีเหลืองอ่อน โดยปรากฏพลาสมอนพิกส์ ณ ความยาวคลื่นประมาณ 423 nm ซึ่งให้เหตุว่ามีอนุภาคนาโนเงินเกิดขึ้น โดยอนุภาคนาโนเงินเกิดขึ้นเนื่องจาก AgNO_3 ที่ละลายในน้ำแตกตัวเป็น Ag^+ และ NO_3^- หมู่ไฮดรอกซิลหรือหมู่ฟังก์ชัน $-\text{OH}$ (hydroxyl group) ในโมเลกุลของมอลโทส จะไปรีดิวซ์ Ag^+ ให้กลายเป็น Ag^0 ซึ่งก็คือเงินในสถานะของแข็งนั่นเอง (Vasileva et al., 2010; Liu et al., 2012) และเมื่อมีการเติม NaOH เพื่อให้ pH ของสารละลายเท่ากับ 8 (มีสภาพเป็นด่าง) พบว่าสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของคอลลอยด์ปรากฏพลาสมอนพิกส์ ณ ความยาวคลื่นประมาณ 432 nm เพิ่มจากกรณีที่ไม่มีการปรับค่า pH ของสารละลาย ซึ่งปรากฏพลาสมอนพิกส์ ณ ความยาวคลื่นประมาณ 423 nm นั่นคือมีการเลื่อนตำแหน่งความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนแสงสูงที่สุดไปทางแสงสีแดง (redshift) นอกจากนี้ ความเข้มในการดูดกลืนแสงยังมากขึ้นอีกด้วย จึงทำให้เห็นสารละลายมีสีเหลืองอมน้ำตาลและมีสีเข้มกว่ากรณีที่ไม่มีการปรับค่า pH แสดงให้เห็นว่าอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ได้มีขนาดใหญ่ขึ้นและมีปริมาณ

ที่มากขึ้น (Hammond et al., 2014) เพราะว่าสถานะของสารละลายที่เป็นต่างสามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาได้ดี ซึ่งการวิเคราะห์ขนาดของอนุภาคนาโนเงินด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรสโคปี สอดคล้องกับภาพถ่ายของอนุภาคโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านดังแสดงในภาพที่ 2 จากภาพพบว่าอนุภาคนาโนเงินมีลักษณะเป็นทรงกลมและมีขนาดอยู่ในระดับนาโนเมตร โดยอนุภาคที่สังเคราะห์ได้ภายใต้สภาวะที่เป็นต่างจะมีขนาดใหญ่กว่า คือ มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 33 ± 8 nm ส่วนอนุภาคที่สังเคราะห์ขึ้นภายใต้สภาวะที่ไม่มีการปรับค่า pH จะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 15 ± 3 nm นอกจากนี้ยังเห็นว่าการเติม NaOH เพื่อปรับค่า pH ของสารละลาย ส่งผลให้อนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ได้อยู่กันอย่างกระจุกกระจายมากกว่ากรณีที่ไม่มีการปรับค่า pH ของสารละลาย เนื่องจากสภาพพื้นผิวของอนุภาคจะมีประจุลบเพิ่มมากขึ้น จึงเกิดแรงผลักรันอย่างอ่อน ๆ

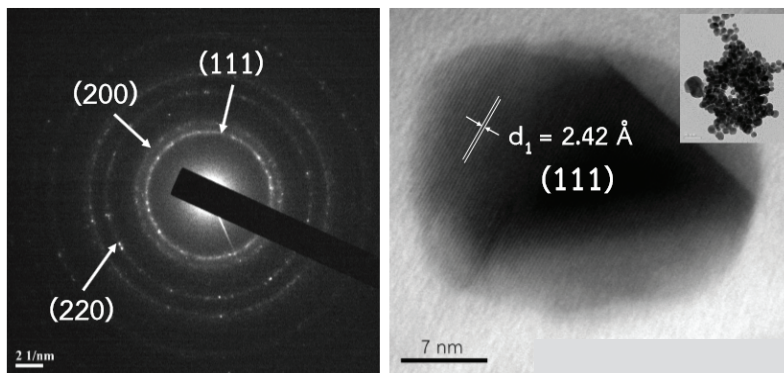


รูปที่ 3 รูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ของอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ขึ้น

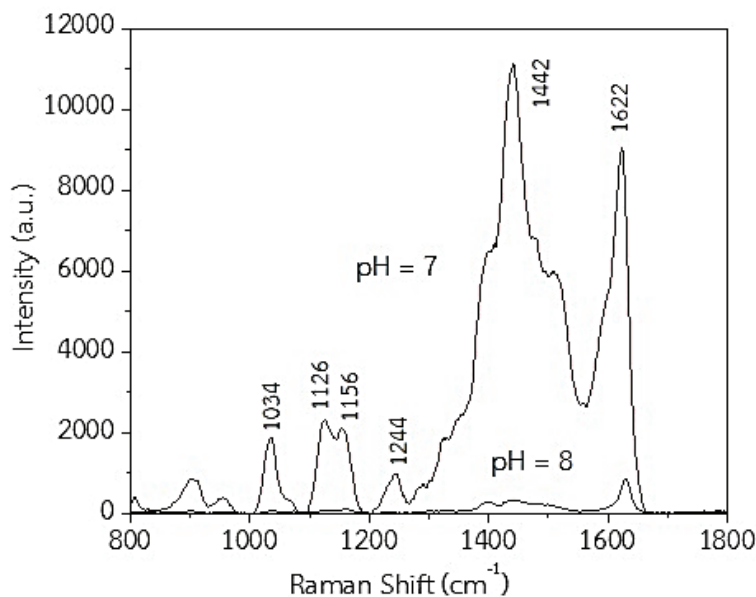
เมื่อนำอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ขึ้นไปวิเคราะห์โครงสร้างผลึกด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ จะได้รูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ของอนุภาคนาโนเงินดังแสดงในภาพที่ 3 ซึ่งปรากฏพิกัดตำแหน่งมุม 2θ เท่ากับ 38.1 44.3 64.4 และ 77.5° จากการเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลตาม JCPDS พบว่า สอดคล้องกับระนาบ (111) (200) (220) และ (311) ตามลำดับ มีโครงสร้างผลึกแบบลูกบาศก์ ภาพที่ 4 แสดงรูปแบบการเลี้ยวเบนของอิเล็กตรอนและภาพจากเทคนิคจุลทรรศน์อิเล็กตรอนความละเอียดสูงแบบส่องผ่าน (high-resolution transmission electron microscopy หรือ HRTEM) ซึ่งผลการวิเคราะห์ที่ได้เป็นไปในทำนองเดียวกันกับผลการวิเคราะห์การเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ กล่าวคือ พบระนาบ (111) (200) และ (220) โดยระยะห่างระหว่างระนาบ (111) เท่ากับ $2.42 \text{ \AA}$

2. ผลการตรวจวัดสัญญาณรามานของสีย้อมโดยใช้เทคนิค SERS

จากผลการสังเคราะห์ที่ได้ในตอนต้นที่ 1 พบว่า อนุภาคนาโนเงินสามารถสังเคราะห์ขึ้นได้เมื่อไม่มีการปรับสภาพความเป็นกรด - ด่างของสารละลาย และเมื่อสารละลายอยู่ในสภาพที่เป็นต่าง ดังนั้นการทดลองในตอนต้นที่ 2 นี้ จึงได้นำคอลลอยด์อนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ขึ้นภายใต้สภาวะทั้ง 2 ซึ่งมีขนาดและปริมาณของอนุภาคแตกต่างกันมาศึกษาผลการขยายสัญญาณรามานของสารละลายเมทิลีนบลูด้วยเทคนิค SERS โดยการผสมกันระหว่างคอลลอยด์อนุภาคนาโนเงินและสารละลายเมทิลีนบลูที่มีความเข้มข้น 10^{-4} M ในอัตราส่วน 1:1 แล้วหยดสารผสมปริมาตร 5 μ l ลงบนกระจกสไลด์ หลังจากนั้นจึงนำไป



รูปที่ 4 รูปแบบการเลี้ยวเบนของอิเล็กตรอนจากอนุภาคนาโนเงินและภาพถ่าย HRTEM



รูปที่ 5 รามานสเปกตรัมของเมทิลีนบลูเมื่อใช้พื้นผิวของอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ได้ ภายใต้สภาวะที่ไม่ปรับ pH (pH = 7) และสภาวะที่มีสภาพเป็นด่าง (pH = 8) ในการขยายสัญญาณรามาน

วิเคราะห์สัญญาณ SERS ด้วยเครื่องรามานสเปกโตรมิเตอร์ โดยใช้แสงเลเซอร์ที่มีความยาวคลื่นเท่ากับ 532 nm ได้ทันที โดยไม่ต้องทิ้งไว้ให้แห้งเช่นเดียวกันวิธีการที่นำเสนอโดยนักวิจัยท่านอื่น (Zhang et al., 2015)

รูปที่ 5 แสดงรามานสเปกตรัมของเมทิลีนบลูเมื่อใช้เทคนิค SERS จากภาพพบว่า พื้นผิวอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ขึ้นภายใต้สภาวะที่ไม่มีการปรับค่า pH และมีการปรับค่า pH ของสารละลายให้เท่ากับ 8 ให้ค่า ER (จากการคำนวณ ณ ตำแหน่ง Raman shift 1442 nm^{-1} โดยใช้สมการที่ (2)) เท่ากับ 68 และ 6.5 ตามลำดับ ซึ่งให้เห็นว่าพื้นผิวอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ขึ้นเมื่อไม่มีการปรับค่า pH สามารถขยายสัญญาณรามานได้ถึง 68 เท่า ซึ่งมากกว่าอีกเงื่อนไขหนึ่งประมาณ 10 เท่า ทั้งนี้เนื่องจากอนุภาคนาโนเงินมีการเกาะตัวกันของอนุภาคเดี่ยว (aggregation) มากกว่า ดังแสดงในภาพที่ 2 การเกาะตัวกันนี้ทำให้เกิดจุดกระจายสัญญาณ (hotspot) ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการเพิ่มความเข้มของพลาสมอนเรโซแนนซ์ ที่สัมพันธ์กับการขยายสนามแม่เหล็กไฟฟ้า (Wang และคณะ, 2013) โดยรามานสเปกตรัมของเมทิลีนบลูจะปรากฏสัญญาณรามาน ณ ตำแหน่ง Raman shift ที่ $1622\ 1442\ 1244$ และ 1034 nm^{-1} ซึ่งเกิดขึ้นเนื่องจากการสั่นของ C=C C-H C-N และ C-H ตามลำดับ (Olea-Mejía et al., 2015)

จากที่ทราบแล้วว่าอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ขึ้นเมื่อไม่มีการปรับค่า pH ของสารละลายสามารถขยายสัญญาณรามานได้ดีที่สุด ต่อไปจึงทำการศึกษาค่าผลของอัตราส่วนในการผสมคอลลอยด์และเมทิลีนบลู (1:1 1:2 1:3 2:1 และ 3:1) ต่อความสามารถในการขยายสัญญาณรามาน พบว่าเมื่ออัตราส่วนระหว่างคอลลอยด์อนุภาคนาโนเงินและเมทิลีนบลูเท่ากับ 1:1 1:2 1:3 2:1 และ 3:1 จะได้ค่า ER ประมาณ 68 49.2 84 148 และ 175 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าถ้าจำนวนอนุภาคนาโนเงินในสารผสมเพิ่มมากขึ้นจะสามารถช่วยในการขยายสัญญาณรามานได้มากขึ้นตามไปด้วย (Green and Liu, 2003)

สรุป

สารละลายน้ำตาลมอลโทสสามารถนำมาใช้เป็นตัวรีดิวซ์แทนการใช้สารเคมีต่าง ๆ เพื่อสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินได้ ซึ่งจัดเป็นการสังเคราะห์ที่ไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม ด้วยหลักการนี้จึงสามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้สารจากธรรมชาติอื่น ๆ มาเป็นตัวรีดิวซ์ นอกจากนั้นวิธีการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินที่นำเสนอในงานวิจัยนี้ ยังเป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว และสามารถเร่งการเกิดอนุภาคนาโนเงินได้โดยการปรับค่า pH ของสารละลาย แต่หากต้องการนำคอลลอยด์อนุภาคนาโนเงินไปใช้ในการขยายสัญญาณรามานแล้ว ควรจะต้องคำนึงถึงขนาดและจำนวนของอนุภาคนาโนเงินซึ่งต้องมีตำแหน่งของพลาสมอนพิกที่เหมาะสมกับความยาวคลื่นของแสงเลเซอร์ที่จะใช้ในการกระตุ้นด้วย นอกจากนั้นปัจจัยที่สำคัญอีกประการหนึ่ง คือ การเกาะตัวกันของอนุภาคเดี่ยว โดยงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าอนุภาคนาโนที่สังเคราะห์ได้สามารถนำไปใช้ในการขยายสัญญาณรามานด้วยเทคนิค SERS ได้โดยนำไปผสมกับสารตัวอย่างที่ต้องการตรวจวัด นอกจากนั้นยังสามารถนำหลักการนี้ไปประยุกต์ใช้เพื่อเป็นเซนเซอร์ในด้านต่าง ๆ เช่น อาหารและยา หรือนิติวิทยาศาสตร์ สำหรับตรวจวัดสารอินทรีย์อื่น ๆ ได้ อีกด้วย

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี และโครงการพัฒนากำลังคนด้านวิทยาศาสตร์ (ทุนเรียนดีวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย) สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา นอกจากนี้ผู้วิจัยขอขอบคุณคณะพลังงานสิ่งแวดล้อมและวัสดุ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องมือวิเคราะห์การเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ และขอขอบคุณกลุ่มวิจัยเทคโนโลยีฟิล์มบางเชิงแสง ศูนย์เทคโนโลยีอิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์แห่งชาติ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องรามานสเปกโตรมิเตอร์

เอกสารอ้างอิง

- พิมล เรือนวัฒนา. (2526). **สเปกโตรสโกปีขั้นพื้นฐานกับการประยุกต์ทางเคมี**. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์อักษรเจริญทัศน์.
- Green, M., and Liu, F.M. (2003). SERS substrates fabricated by island lithography: the silver/pyridine system. **The Journal of Physical Chemistry B**, **107**, 13015-13021.
- Hammond, J.L, Bhalla, N., Rafiee, S.D., and Estrela, P. (2014). Localized surface plasmon resonance as a biosensing platform for developing countries. **Biosensors**, **4**, 172-188.
- Hutter, E., and Fendler, J.H. (2004). Exploitation of localized surface plasmon resonance. **Advanced Materials**, **16**, 1685-1706.
- Khandpur, R.S. (2006). **Handbook of Analytical Instruments**. New Delhi: Tata McGraw-Hill Publishing.
- Lee, P.C., and Meisel, D. (1982). Absorption and surface-enhanced Raman of dyes on silver and gold sols. **The Journal of Physical Chemistry**, **86**, 3391-3395.
- Liu, H., Wei, X., Luo, M., Li, W., Yang, L., Liang, X., Xu, L., and Kong, P. (2012). Synthesis of silver nanoparticles by solar irradiation of cell-free *Bacillus amyloliquefaciens* extracts and AgNO₃. **Bioresource Technology**, **103**, 273-278.
- Olea-Mejía, O., Fernández-Mondragón, M., Rogríquez-de la Concha, G., and Camacho-López, M. (2015). SERS-active Ag, Au and Ag-Au alloy nanoparticles obtained by laser ablation in liquids for sensing methylene blue. **Applied Surface Science**, **348**, 66-70.
- Petryayeva, E., and Krull, U.J. (2011). Localized surface plasmon resonance: nanostructures, bioassays and biosensing-a review. **Analytica Chimica Acta**, **706**, 8-24.
- Rodríguez-Fernández, D., Langer, J., Henriksen-Lacey, M., and Liz-Marzán, L.M. (2015).

- Hybrid Au-SiO₂ core-satellite colloids as switchable SERS tags. **Chemistry of Materials**, **27**, 2540-2545.
- Sharma, V.K., Yngard, R.A., and Lin, Y. (2009). Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities. **Advances in Colloid and Interface Science**, **145**, 83-96.
- Slistan-Grijalva, A., Herrera-Urbina, R., Rivas-Silva, J.F., Ávalos-Borjad, M., Castillo-Barrazad, F.F., and Posada-Amarillas, A. (2005). Classical theoretical characterization of the surface plasmon absorption band for silver spherical nanoparticles suspended in water and ethylene glycol. **Physica E**, **27**, 104-112.
- Sundaram, J., Park, B., Kwon, Y., and Lawrence, K.C. (2013). Surface enhanced Raman scattering (SERS) with biopolymer encapsulated silver nanosubstrates for rapid detection of foodborne pathogens. **International Journal of Food Microbiology**, **167**, 67-73.
- Vasileva, P., Donkova, B., Karadjova, I., and Dushkin, C. (2010). Synthesis of starch-stabilized silver nanoparticles and their application as a surface plasmon resonance-based sensor of hydrogen peroxide. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, **382**, 203-210.
- Vriezina, C.A., Sánchez-Pedreño, S., and Grasman, J. (2002). Thermal runaway in microwave heating: a mathematical analysis. **Applied Mathematical Modelling**, **26**, 1029-1038.
- Wang, Y., Yan, B., and Chen, L. (2013). SERS tags: novel optical nanoprobe for bioanalysis. **Chemical Reviews**, **113**, 1391-1428.
- White, P., and Hjortkjaer, J. (2014). Preparation and characterization of a stable silver colloid for SERS spectroscopy. **Journal of Raman Spectroscopy**, **45**, 32-40.
- Xie, H.N., Larmour, L.A., Smith, W.E., Faulds, K., and Graham, D. (2012). Surface-enhanced Raman scattering investigation of hollow gold nanospheres. **The Journal of Physical Chemistry C**, **116**, 8338-8342.
- Zeiri, L., and Efrima, S. (2005). Surface-enhanced Raman spectroscopy of bacteria: the effect of excitation wavelength and chemical modification of the colloidal milieu. **Journal of Raman Spectroscopy**, **36**, 667-675.
- Zhang, K., Zeng, T., Tan, X., Wu, W., Tang, Y., and Zhang, H. (2015). A facile surface-enhanced Raman scattering (SERS) detection of rhodamine 6G and crystal violet using Au nanoparticle substrate. **Applied Surface Science**, **347**, 569-573.