



การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณเมลามีนในตัวอย่างนมผง

ด้วยการใช้คาร์บอนควอนตัมดอทเป็นตัวตรวจวัด

METHOD DEVELOPMENT FOR MELAMINE DETERMINATION
IN MILK POWDER SAMPLES USING CARBON QUANTUM DOTS
AS A DETECTION PROBE

SOULIYANH PHIMMASONE

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณเมลามีนในตัวอย่างนมผง
ด้วยการใช้คาร์บอนควอนตัมดอทเป็นตัวตรวจวัด



ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
การศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ปีการศึกษา 2563
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

METHOD DEVELOPMENT FOR MELAMINE DETERMINATION
IN MILK POWDER SAMPLES USING CARBON QUANTUM DOTS
AS A DETECTION PROBE



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of MASTER OF EDUCATION
(Chemistry)

Faculty of Science, Srinakharinwirot University

2020

Copyright of Srinakharinwirot University

ปริญญานิพนธ์

เรื่อง

การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณเมลาเมลีนในตัวอย่างนมผง

ด้วยการใช้คาร์บอนคอนแทคตัมคอปเป็นตัวตรวจวัด

ของ

SOULIYANH PHIMMASONE

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี

ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉัตรชัย เอกปัญญาสกุล)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์

ที่ปรึกษาหลัก

(รองศาสตราจารย์ ดร.เกรียงศักดิ์ ส่งศรีโรจน์)

ประธาน

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณัฐภูมิ เชิงชั้น)

กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นวลละอ อรัตน

วิมานวงศ์)

ชื่อเรื่อง	การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณเมลามีนในตัวอย่างนมผง ด้วยการใช้คาร์บอนควอนตัมดอทเป็นตัวตรวจวัด
ผู้วิจัย	SOULIYANH PHIMMASONE
ปริญญา	การศึกษามหาบัณฑิต
ปีการศึกษา	2563
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. เกียรติศักดิ์ สงศรีโรจน์

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการพัฒนาวิธีที่มีความไวและความจำเพาะเจาะจงสูงในการวิเคราะห์ปริมาณเมลามีนในตัวอย่างนมผง โดยการใช้คาร์บอนควอนตัมดอท (CDs) เป็นตัวตรวจวัด โดยอาศัยคุณสมบัติการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์ของอนุภาคคาร์บอนควอนตัมดอท ที่สังเคราะห์จากกรดซิตริกและยูเรียภายใต้การให้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟ กำลัง 300 วัตต์ เป็นเวลา 7 นาที เกิดเป็น CDs ที่มีค่าการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่มีความยาวคลื่น 538 นาโนเมตร เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วยพลังงานที่ 410 นาโนเมตร สภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัด คือ ค่า pH ของสารละลายเท่ากับ 6 อัตราส่วนปริมาณของ CDs ต่อเมลามีนเท่ากับ 2:8 และ เวลาในการเกิดปฏิกิริยาที่ 15 นาที ทั้งนี้การเพิ่มขึ้นของเมลามีนส่งผลต่อการระงับการวาวแสงของ CDs ที่เพิ่มขึ้น ผ่านกลไกแบบการถ่ายโอนอิเล็กตรอนระหว่าง CDs กับเมลามีน โดยช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัดเมลามีนเป็นไปตามความสัมพันธ์ของสมการ Stern-Volmer มีค่าระหว่างช่วง 2.5 ถึง 200.0 ppm ระบบการตรวจวัดให้ค่าความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ (%RSD, n = 5) น้อยกว่า 5% ค่าต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ (LOD) เท่ากับ 1.44 ppm และค่าต่ำสุดที่ตรวจวัดปริมาณได้ (LOQ) 2.48 ppm ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับปริมาณที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาของสหรัฐอเมริกาได้ยอมรับให้มีเมลามีนในผลิตภัณฑ์นมได้

คำสำคัญ : เมลามีน, คาร์บอนควอนตัมดอท, แสงฟลูออเรสเซนซ์, ไมโครเวฟ, นมผง

Title	METHOD DEVELOPMENT FOR MELAMINE DETERMINATION IN MILK POWDER SAMPLES USING CARBON QUANTUM DOTS AS A DETECTION PROBE
Author	SOULIYANH PHIMMASONE
Degree	MASTER OF EDUCATION
Academic Year	2020
Thesis Advisor	Associate Professor Dr. Kriangsak Songsrirote

This research aimed to develop a method with high sensitivity and specificity for analyzing melamine content in milk powder samples by using carbon quantum dot (CDs) as a detection probe based on fluorescent quenching of the CDs, which were synthesized from citric acid and urea under microwave irradiation at 300 Watts for seven minutes. The synthesized CDs emitted fluorescence at maximum wavelength of 538 nm and with excitation wavelength of 410 nm. The optimal condition for melamine determination using the CDs was under pH 6 of the sample solution, volume ratio between CDs and sample of 2:8, and reaction time of fifteen minutes. The increase of melamine concentration resulted in the increase of quenching level through the mechanism of photo-induced electron transfer. The linearity range of the detection was 2.5 to 200.0 ppm following the Stern-Volmer equation. The developed method provided a high precision of melamine determination with less than 5% of %RSD ($n = 5$), and high sensitivity with LOD of 1.44 ppm and LOQ of 2.48 ppm, close to the allowance level regulated by the Food and Drug Administration the United States for melamine in dairy products.

Keyword : Melamine, Carbon quantum dots, Fluorescence, Microwave, Milk powder

กิตติกรรมประกาศ

ปริญญานิพนธ์สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีเนื่องจาก ผู้วิจัยได้รับความกรุณาให้คำปรึกษาและแนะนำแนวทางในการทำวิจัยจาก รศ.ดร. เกรียงศักดิ์ ส่งศรีโรจน์ เป็นอาจารย์ที่ปรึกษาหลักปริญญานิพนธ์ ผู้สละเวลาและให้ความช่วยเหลือผู้วิจัยตลอดการทำวิจัย ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งใจ และขอกราบขอบพระคุณไว้ ณ ที่นี้

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ. ดร. ณัฐวุฒิ เชิงชั้น ที่ให้ความกรุณาเป็นประธานในการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์ ตลอดจนให้คำแนะนำในการปรับปรุงแก้ไขให้ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น และกราบขอบพระคุณ ผศ. ดร. นวลละออ รัตนวิมานวงศ์ ผู้ให้ความกรุณาเป็นกรรมการในการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์ ที่ให้คำแนะนำในการปรับปรุงแก้ไขงานวิจัยที่ดีเสมอมา

ขอกราบขอบพระคุณ กระทรวงการต่างประเทศโดยกรมความร่วมมือระหว่างประเทศ (Thailand International Cooperation Agency -TICA) ที่เป็นผู้ให้ทุนสนับสนุนการศึกษาและวิจัย ตลอดจนค่าใช้จ่ายในชีวิตประจำวัน จนสำเร็จการศึกษาระดับมหาบัณฑิตวิทยาลัย เป็นระยะเวลา 2 ปี 6 เดือน

ขอกราบขอบพระคุณ วิทยาลัยครู สะหวันนะเขต สปป.ลาว ที่ให้โอกาส และสนับสนุนในการยกระดับการศึกษาในครั้งนี้

ขอกราบขอบพระคุณ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ สำหรับการสนับสนุนด้านสถานที่ อุปกรณ์ และเครื่องมือในการทำวิจัย

ท้ายสุดผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ บิดามารดา และสมาชิกในครอบครัวทุกท่าน ที่ให้การสนับสนุนในด้านการศึกษา และกำลังใจที่ดีให้เสมอมา ขอขอบคุณเพื่อนๆทุกท่านที่อยู่เคียงข้างกันเสมอมา คุณค่าและประโยชน์จากการทำปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบให้เป็นแนวทางในการพัฒนาการศึกษาของประเทศต่อไป

SOULIYANH PHIMMASONE

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญรูปภาพ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ภูมิหลัง	1
ความมุ่งหมายของงานวิจัย.....	3
ความสำคัญของงานวิจัย	3
ขอบเขตของโครงการวิจัย	3
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรม.....	5
2.1 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องเกี่ยวกับสารเมลามีน	5
2.1.1 คุณสมบัติและลักษณะของสารเมลามีน.....	5
2.1.2 การใช้ประโยชน์ของสารเมลามีน.....	6
2.1.3 ผลเสียของสารเมลามีนต่อสุขภาพ.....	6
2.2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับ CDs.....	7
2.2.1 ความเป็นมาของ CDs	7
2.2.2 คุณสมบัติและลักษณะของ CDs	8
2.2.3 วิธีในการสังเคราะห์ CDs.....	13
2.2.3.1 การระเหิดด้วยเลเซอร์ (Laser ablation)	13

2.2.3.2 ขั้นตอนการทำให้เกิดเป็นอนุภาคของธาตุคาร์บอน (Carbonization procedure)	14
2.2.3.3 วิธีไฮโดรเทอร์มอล (Hydrothermal method).....	14
2.2.3.4 การสังเคราะห์ด้วยคลื่นไมโครเวฟ (Microwave-assisted method)	15
2.2.4 การใช้ประโยชน์ของ CDs ในเชิงการตรวจวัดทางเคมีวิเคราะห์	16
2.2.4.1 การตรวจวัดสารปนเปื้อนในตัวอย่างสิ่งแวดล้อม	16
2.2.4.2 การตรวจวัดสารกลุ่ม biomarker	17
2.2.4.3 การตรวจวัดสารปนเปื้อนในตัวอย่างอาหาร	18
2.2.5 คุณสมบัติและการประยุกต์ใช้ CDs ที่สังเคราะห์จากกรดซิตริกและยูเรียเพื่อการตรวจวัด	19
2.3. การตรวจวิเคราะห์เมลามีน	20
2.4 ประเด็นของงานวิจัย	22
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	23
3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือการทดลอง	24
3.2. วิธีการสังเคราะห์ CDs	24
3.3 การตรวจวัดคุณสมบัติเชิงแสงและลักษณะทางกายภาพของ CDs	25
3.4 วิธีการตรวจวัดประสิทธิภาพของ CDs ในการตรวจวัดสารเมลามีน	26
3.4.1 การศึกษาผลของค่า pH ที่เหมาะสม	26
3.4.2 การศึกษาผลของอัตราส่วน.....	26
3.4.3 การศึกษาผลของเวลา	26
3.5 ศึกษาประสิทธิภาพ ความแม่นยำ และความจำเพาะของ CDs ในการตรวจวัดสารเมลามีน	26
3.5.1 ความเป็นเส้นตรง (Linearity range)	26
3.5.2 ศึกษาร้อยละการคืนกลับ (%recovery)	26

3.5.3 ค่าต่ำสุดที่ตรวจพบได้ (LOD) และค่าต่ำสุดที่ตรวจวัดปริมาณได้ (LOQ)	27
3.5.4 ผลของสารรบกวนต่างๆ (Interference).....	27
3.6 การตรวจวัดสารเมลามีนในผลิตภัณฑ์นมผง	27
3.6.1 การเตรียมตัวอย่างนมผงสำหรับการตรวจวัดเมลามีน (Lei et al., 2016).....	27
3.6.2 การตรวจวัดเมลามีนในผลิตภัณฑ์นมผงด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้น.....	28
3.7 การเปรียบเทียบความถูกต้องในการตรวจวัดสารเมลามีนในผลิตภัณฑ์นมผงด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นและวิธีมาตรฐาน (HPLC) (Venkatasami & Sowa Jr, 2010).....	28
บทที่ 4 ผลการศึกษา	30
4.1 ลักษณะทางกายภาพและคุณสมบัติเชิงแสงของ CDs ต่อการตรวจวัดเมลามีน	30
4.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการตรวจวัดเมลามีนด้วย CDs.....	33
4.2.1 ผลของค่า pH ต่อประสิทธิภาพในการตรวจวัดเมลามีน.....	33
4.2.2 ผลของอัตราส่วนปริมาตร CDs : เมลามีน ต่อประสิทธิภาพในการตรวจวัดเมลามีน	34
4.2.3 ผลของเวลาในการเกิดปฏิกิริยาต่อประสิทธิภาพในการตรวจวัดเมลามีน	35
4.3 ศึกษาประสิทธิภาพ และ ความจำเพาะของ CDs ในการตรวจวัดเมลามีน.....	36
4.3.1 ความเป็นเส้นตรง (Linearity range)	36
4.3.2 ค่าต่ำสุดที่ตรวจพบได้ (Limit of Detection, LOD)	37
4.3.3 ค่าต่ำสุดที่ตรวจวัดปริมาณได้ (Limit of quantitation, LOQ).....	37
4.3.4 ผลของสารรบกวนต่างๆ (Interference).....	37
4.4 การตรวจวัดสารเมลามีนในผลิตภัณฑ์นมผงด้วย CDs	38
4.5 กลไกการระงับการวาวแสงของ CDs ด้วยสารเมลามีน.....	39
บทที่ 5 สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	42
ข้อเสนอแนะ	44
บรรณานุกรม	45

ประวัติผู้เขียน.....	53
----------------------	----



สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง 1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณเมลามีนในตัวอย่างนมผงด้วย CDs และ เครื่อง HPLC	38
--	----



สารบัญรูปภาพ

	หน้า
ภาพประกอบ 1 สูตรโครงสร้างของเมลามีน.....	1
ภาพประกอบ 2 หมู่ฟังก์ชันที่พื้นผิวของCDs.....	8
ภาพประกอบ 3 การวาวแสงของCDs	9
ภาพประกอบ 4 การถ่ายโอนอิเล็กตรอน โดย D คือสารให้อิเล็กตรอน และ A คือสารรับอิเล็กตรอน	10
ภาพประกอบ 5 การถ่ายโอนพลังงานระหว่างสารที่ใช้ในการตรวจวัดกับสารวิเคราะห์ ตามทฤษฎีของ FRET	12
ภาพประกอบ 6 แสดงการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์ของ CDs จากกรดซิตริกและยูเรีย ที่สังเคราะห์ด้วยการให้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟใน (6ก) CDs ที่สังเคราะห์ผ่านระบบปิด มีหมู่ฟังก์ชันเป็น Citraczinic acid (ภาพเล็ก) และ (6ข) CDs ที่สังเคราะห์ผ่านระบบเปิด มีหมู่ฟังก์ชันเป็น HPPT (ภาพเล็ก)	31
ภาพประกอบ 7 แสดงสเปกตรัมของ CDs ที่ผสมกับสารละลายเมลามีนมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	32
ภาพประกอบ 8 แสดงสเปกตรัมของ CDs ที่ผสมกับสารละลายเมลามีนมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	32
ภาพประกอบ 9 แสดงลวดลายระนาบแลตทิซ (lattice fringes) ของ CDs โดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน.....	33
ภาพประกอบ 10 แสดงร้อยละการลดลงของการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์ของ CDs เมื่อเกิดปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานเมลามีนเข้มข้น 10 ppm ที่ค่า pH ของสารละลายต่างๆ ..	34
ภาพประกอบ 11 แสดงร้อยละการลดลงของการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่อัตราส่วนปริมาตรต่างๆของ CDs กับสารละลายมาตรฐานเมลามีนความเข้มข้น 10 ppm ที่ pH 6.....	35
ภาพประกอบ 12 แสดงร้อยละการลดลงของการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ช่วงเวลาต่างๆในการเกิดปฏิกิริยาของ CDs กับสารละลายมาตรฐานเมลามีนเข้มข้น 10 ppm ที่ค่า pH 6.....	36

ภาพประกอบ 13 แสดงสเปกตรัมการระงับการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์ของ CDs (13ก) และ กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายเมลามีนมาตรฐานกับความเข้มของการวาวแสง ตามสมการของ Stern-Volmer (13ข) ที่ความเข้มข้น 2.5 ถึง 200 ppm	37
ภาพประกอบ 14 การตกตะกอนปูนตามความเข้มข้นของสารเมลามีนที่เพิ่มขึ้น (ความเข้มข้นของเมลามีนที่เติม 5 ถึง 200ppm ตามลำดับ)	40
ภาพประกอบ 15 แสดงการรวมตัวกันของ CDs กับเมลามีนโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน	40
ภาพประกอบ 16 การระงับการวาวแสงและเกิดการรวมตัวกันของ CDs ด้วยสารเมลามีน	41

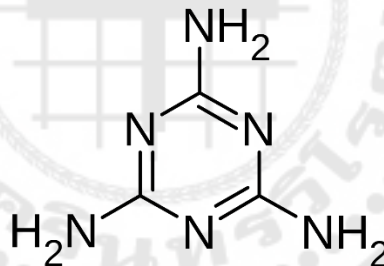


บทที่ 1

บทนำ

ภูมิหลัง

เมลามีนเป็นสารอินทรีย์ชนิดหนึ่ง มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ 1,3,5-triazine-2,4,6-triamine ($C_3H_6N_6$) และมีโครงสร้างดังแสดงในภาพประกอบ 1 ทั้งนี้เมลามีนเป็นสารที่มีความสำคัญในด้านอุตสาหกรรม โดยใช้ในกระบวนการผลิตที่หลากหลาย เช่น ผลิตภัณฑพลาสติก จานเมลามีน เม็ดสีสำหรับหมึกพิมพ์สีเหลือง และ ผลิตภัณฑ์สำหรับการเกษตร อย่างไรก็ตาม เนื่องจากเมลามีนมีองค์ประกอบของไนโตรเจนถึงร้อยละ 66 โดยน้ำหนัก ดังนั้นจึงถูกใช้เป็นสารปลอมปนในการผลิตอาหารของทั้งคนและสัตว์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการนำไปปลอมปนในผลิตภัณฑ์นมผงสำเร็จรูปสำหรับทารกแรกเกิดถึงอายุ 1 ปี เพื่อให้ผลการตรวจวัดโปรตีนในรูปของธาตุไนโตรเจนมีปริมาณสูง ซึ่งเป็นการหลอกลวงผู้บริโภคอย่างร้ายแรง เนื่องจากเมลามีนไม่มีคุณค่าด้านโภชนาการแต่อย่างใด และยังนำไปสู่การเกิดผลเสียต่อสุขภาพของผู้บริโภคอย่างรุนแรงจนถึงชีวิตได้อีกด้วย (N. Li et al., 2010)



ภาพประกอบ 1 สูตรโครงสร้างของเมลามีน

ในปี 2007 สัตวแพทย์ได้ตรวจพบว่าสารเมลามีนเป็นสาเหตุการตายของสัตว์เลี้ยงหลายแสนตัวที่กินอาหารที่มีการปนเปื้อนของเมลามีนอยู่ (Li, Li, Cheng, & Mao, 2010) และ ในปี 2008 ประเทศจีน ได้กำหนด ให้นมผงที่มีส่วนผสมของสารเมลามีนเป็นผลิตภัณฑ์ที่ผิดกฎหมายเนื่องจากเกิดปัญหาทางสุขภาพของทารกที่ทานนมผงที่มีส่วนผสมของเมลามีนเป็นจำนวนมาก ส่งผลให้ปัญหาการปนเปื้อนของเมลามีนในอาหารเป็นสิ่งที่คนทั่วโลกให้ความสนใจ ทั้งนี้ในกรณีที่ได้รับสารเมลามีนเข้าสู่ร่างกายในปริมาณมากจะทำให้เกิดการก่อตัวของผลึกเมลามีนไซยาโนเรต ซึ่งเป็นสารที่ไม่ละลายในไต จึงทำให้เกิดภาวะไตวายได้ (Brown et al., 2007) ดังนั้น เพื่อความปลอดภัยต่อผู้บริโภค สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาของสหรัฐอเมริกาได้กำหนดให้

สามารถมีการปนเปื้อนของมีเมลามีนในผลิตภัณฑ์อาหารได้ไม่เกิน 2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ppm) และในนมผงไม่เกิน 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ppm) เพราะฉะนั้น การตรวจวัดปริมาณของเมลามีนในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อเฝ้าระวังการปนเปื้อนและความคุ้มครองคุณภาพของผลิตภัณฑ์จึงมีความสำคัญอย่างมากต่อสุขอนามัยที่ดีของผู้บริโภค (Kumar, Seth, & Kumar, 2014)

ทั้งนี้ได้มีการพัฒนาเทคนิคและวิธีในการตรวจวัดปริมาณของเมลามีนขึ้นหลายวิธี เช่น แก๊สโครมาโทกราฟี/แมสสเปกโตรเมตรี (GC/MS) (Yokley, Mayer, Rezaaiyan, Manuli, & Cheung, 2000), โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง/แมสสเปกโตรเมตรี (HPLC/MS) (Venkatasami & Sowa Jr, 2010), คาปิลลารีอิเล็กโตรโฟรีซิส (Capillary electrophoresis / MS) (Cook, Klampfl, & Buchberger, 2005), นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี (Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy) (Lachenmeier et al., 2009), เป็นต้น ซึ่งเทคนิคดังกล่าวมีความทันสมัย ที่สามารถแยกและวิเคราะห์สารได้อย่างมีประสิทธิภาพ มีความแม่นยำและความจำเพาะเจาะจงสูง อย่างไรก็ตาม การตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเหล่านี้ต้องอาศัยเครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ที่มีราคาแพง และผู้ทำการวิเคราะห์ต้องมีความชำนาญในการใช้เครื่องมืออย่างมาก รวมถึงอาจต้องมีการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ปริมาณมากซึ่งก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม ถ้าไม่ได้รับการบำบัดและกำจัดของเสียที่ถูกต้อง ดังนั้นนักวิจัยจำเป็นต้องพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์ที่ง่าย ประหยัด สะดวก ลดการใช้สารเคมีที่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม และสิ่งที่สำคัญต้องเป็นวิธีที่มีความจำเพาะเจาะจง มีความแม่นยำ และมีความไวในการวิเคราะห์สูง สำหรับการตรวจวัดปริมาณเมลามีนในตัวอย่างที่มีองค์ประกอบซับซ้อน

ดังนั้น ในงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยจึงมีความสนใจในการพัฒนาวิธีในการตรวจวัดปริมาณสารเมลามีนด้วยคาร์บอนควอนตัมดอท (CDs) โดย CDs เป็นสารสังเคราะห์จากสารอินทรีย์มีความเป็นพิษต่ำ โครงสร้างมีลักษณะเป็นผลึกขนาดนาโนเมตร โดยทั่วไปจะมีขนาดต่ำกว่า 10 นาโนเมตร (Monica I. Rednic et al., 2015) มีคุณสมบัติที่สามารถวาวแสงฟลูออเรสเซนส์ได้ มีกลไกการทำงานไม่ซับซ้อน พื้นผิวของคาร์บอนควอนตัมดอทมีบทบาทสำคัญในการส่งผลต่อคุณสมบัติการวาวแสงของอนุภาคนาโนเมตรเหล่านี้ (Zuo, Lu, Sun, Guo, & He, 2016) เนื่องด้วย CDs มีคุณสมบัติการวาวแสงที่เฉพาะตัวนี้เอง อนุภาคนาโนเมตรชนิดนี้จึงได้รับความสนใจจากนักวิจัยในการนำคุณสมบัติเชิงแสงของ CDs ไปประยุกต์ใช้ในงานวิจัยเชิงเคมีวิเคราะห์สำหรับการตรวจวัดสารสำคัญต่างๆ เช่น การตรวจวัดสารปรอทในน้ำทะเลสาบและน้ำใต้ดิน (Yue et al., 2014) ตรวจวัดสาร Tetracycline ในนม (Hou et al., 2016) และ ตรวจวัดสาร Caffeic acid ในน้ำเลือดมนุษย์ (Xiaoman Xu et al., 2018) เป็นต้น ดังนั้นผู้วิจัยจึงเกิดความสนใจในการ

ประยุกต์ใช้ CDs ซึ่งเป็นสารตรวจวัดที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมในการตรวจวัดปริมาณสารเมลามีนในนมผง เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีผู้บริโภคหลักเป็นกลุ่มเด็กทารกและมีจำหน่ายในท้องตลาดเป็นจำนวนมาก อีกทั้งเป็นผลิตภัณฑ์ประเภทอาหาร ดังนั้นสารปนเปื้อนจึงสามารถผ่านเข้าไปสู่ร่างกายผู้บริโภคได้โดยตรง ส่งผลให้ผู้บริโภคมีความเสี่ยงมากขึ้นในการได้รับสารเมลามีนในปริมาณที่มากและอาจเกิดการสะสมภายในร่างกายจน ก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพผู้บริโภคจนถึงแก่ชีวิตได้

ความมุ่งหมายของงานวิจัย

ในงานวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยได้ตั้งความมุ่งหมายไว้ดังนี้

1. เพื่อพัฒนาวิธีการสังเคราะห์ CDs ในการตรวจวัดเมลามีน
2. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของการใช้ CDs ในการตรวจวัดเมลามีน
3. เพื่อประยุกต์ใช้เทคนิคที่พัฒนาขึ้นในการตรวจวัดเมลามีนในผลิตภัณฑ์นมผง

ความสำคัญของงานวิจัย

พัฒนาวิธีตรวจวัดปริมาณของเมลามีนแบบใหม่ ที่สามารถทำได้ง่าย รวดเร็ว มีต้นทุนต่ำ มีความไวและความแม่นยำในการตรวจวัดสูง เพื่อเฝ้าติดตามและควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์อาหารประเภทนมผง ซึ่งจะเป็นประโยชน์ด้านการคุ้มครองผู้บริโภค

ขอบเขตของโครงการวิจัย

ขอบเขตของงานวิจัยในนี้คือ

1. ศึกษาสภาวะของไมโครเวฟในการสังเคราะห์ CDs จากกรดซิตริกกับยูเรีย
2. ศึกษาคุณสมบัติเชิงแสง และเชิงกายภาพของ CDs
3. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดเมลามีน เช่น pH เวลาในการเกิดปฏิกิริยา ความเข้มข้นของ CDs และ อัตราส่วนโดยปริมาตรของ CDs และสารตัวอย่าง เป็นต้น
4. ศึกษาวิธีการเตรียมตัวอย่างสำหรับการตรวจวัดเมลามีนด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้น
5. ศึกษาความจำเพาะของวิธีการที่พัฒนาขึ้นโดยดูผลของสารรบกวนต่างๆต่อการวิเคราะห์
6. ศึกษาความแม่นยำ (Accuracy) ความเที่ยง (Precision) ความเป็นเส้นตรง (Linearity range) สารรบกวนต่างๆ (Interference) และขีดจำกัดการวิเคราะห์เช่น ค่าขีดจำกัด

ต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of detection) ค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการหาปริมาณ (Limit of quantitation) ของวิธีที่พัฒนาขึ้น

7. วิเคราะห์หาปริมาณเมลามีนในตัวอย่างจริง ได้แก่ ผลิตภัณฑ์นมผง โดยเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน เช่น HPLC



บทที่ 2

บททวนวรรณกรรม

งานวิจัยนี้ เป็นการศึกษาวิธีการตรวจวัดสารเมลามีนในผลิตภัณฑ์นมผงโดยใช้ CDs ซึ่งผู้วิจัยได้จัดทำเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องเพื่อเป็นพื้นฐานของการวิจัย โดยนำเสนอความรู้ที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยตามหัวข้อต่อไปนี้

2.1 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องเกี่ยวกับสารเมลามีน

2.1.1 คุณสมบัติและลักษณะของสารเมลามีน

2.1.2 การใช้ประโยชน์ของสารเมลามีน

2.1.3 ผลเสียของสารเมลามีนต่อสุขภาพ

2.2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับ CDs

2.2.1 ความเป็นมาของ CDs

2.2.2 คุณสมบัติและลักษณะของ CDs

2.2.3 วิธีในการสังเคราะห์ CDs

2.2.4 การใช้ประโยชน์ของ CDs ในเชิงการตรวจวัดทางเคมีวิเคราะห์

2.2.5 คุณสมบัติและการประยุกต์ใช้ CDs ที่สังเคราะห์จากกรดซิตริกและยูเรียเพื่อการตรวจวัด

2.3 การตรวจวิเคราะห์เมลามีน

2.4 ประเด็นของงานวิจัย

2.1 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องเกี่ยวกับสารเมลามีน

2.1.1 คุณสมบัติและลักษณะของสารเมลามีน

เมลามีนเป็นสารประกอบอินทรีย์ชนิดหนึ่ง มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ 1,3,5-triazine-2,4,6-triamine ($C_3H_6N_6$) และมีโครงสร้างดังแสดงในภาพประกอบ 1 (Chang et al., 2017) มีคุณลักษณะเป็นของแข็ง มีผลึกสีขาวเป็นสารที่สามารถละลายในน้ำได้ เมื่ออยู่ในรูปแบบสารละลายจะมีคุณสมบัติเป็นเบสอ่อนๆ เป็นสารที่ไม่มีกลิ่น เมลามีนมีองค์ประกอบของไนโตรเจนถึงร้อยละ 66 โดยน้ำหนัก เป็นสารประกอบอินทรีย์จำพวก heteroaromatic (Bretterbauer & Schwarzingler, 2012) มีจุดหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียส เป็นสารตั้งต้นที่ใช้ในการสังเคราะห์เมลามีนฟอร์มัลดีไฮด์เรซิน (Melamine formaldehyde resins) ซึ่งเป็นสารที่ทนความร้อน ใช้สำหรับการผลิตลามิเนต พลาสติก สารเคลือบ กาว และงานเมลามีน (An & Sun, 2017)

2.1.2 การใช้ประโยชน์ของสารเมลามีน

เมลามีนเป็นสารที่มีความสำคัญในด้านอุตสาหกรรมต่างๆ โดยถูกใช้ในกระบวนการผลิตที่หลากหลายเช่น จานเมลามีน ส่วนประกอบของหมึกพิมพ์เม็ดสีเหลือง และผลิตภัณฑ์ใช้ในการเกษตร เป็นต้น นอกจากนี้ เมลามีนยังเป็นโมโนเมอร์ที่ใช้ทั่วไปในการผลิตพลาสติกซึ่งมักถูกใช้ในการผลิตเครื่องใช้บนโต๊ะอาหารเช่น ถ้วย ชาม จาน และ เครื่องใช้ในครัว (R. Liang, Zhang, & Qin, 2009) สารประกอบของเมลามีน-ฟอร์มัลดีไฮด์โพลีเมอร์ เหมาะสำหรับการใช้งานที่สัมผัสกับอาหารเนื่องจากมีความแข็ง ทนความร้อน และ มีความเสถียร นอกจากนี้ เมลามีนยังใช้ในการผลิตยาฆ่าแมลง ซึ่งสามารถถูกย่อยสลายได้โดยแบคทีเรียในดิน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Pseudomonas strain A* และ *Klebsiella terrigena* ผ่านปฏิกิริยา deamination ได้ผลิตภัณฑ์เป็นแอมมิลีน (ammelene) แอมเมลไลด์ (ammelide) และ กรดไซยานูริก (Cyanuric acid) ซึ่งสารเหล่านี้จะถูกย่อยต่อแล้วกลายเป็น Biuret, Urea และสุดท้ายสามารถสลายตัวเป็นแอมโมเนีย และ คาร์บอนไดออกไซด์ได้

เนื่องจากเมลามีนมีองค์ประกอบของไนโตรเจนถึง 66% โดยน้ำหนัก ดังนั้น จึงใช้เป็นสารปลอมปนในอาหารของคน และสัตว์ โดยเฉพาะนมผงสำหรับทารกแรกเกิดถึงช่วงอายุ 1 ขวบ เพื่อเป็นการหลอกลวงว่าอาหารนั้นมีโปรตีนในระดับสูง เพื่อให้ผ่านเกณฑ์มาตรฐานในการตรวจสอบปริมาณโปรตีนโดยวิเคราะห์ในรูปของปริมาณไนโตรเจนรวมในอาหาร โดยที่ผลการวิเคราะห์ไม่สามารถจำแนกได้ว่าปริมาณไนโตรเจนนั้นมาจากโปรตีนหรือสารกลุ่มที่ไม่ใช่โปรตีนได้ ซึ่งการปลอมปนเมลามีนในผลิตภัณฑ์จะช่วยให้อาหารที่มีโปรตีนต่ำสามารถผ่านเกณฑ์มาตรฐานโดยที่มีต้นทุนการผลิตที่ถูกลง อย่างไรก็ตาม เมลามีนนั้นไม่มีคุณค่าทางด้านโภชนาการใดๆ ซ้ำยังเป็นพิษต่อผู้บริโภค ทั้งนี้ ถ้าคนและสัตว์ได้รับสารเมลามีนในปริมาณสูงจะก่อให้เกิดอันตรายต่อร่างกายได้ (N. Li et al., 2010) ในปี 2007 มีเมลามีนประมาณ 1.2 ล้านตันถูกผลิตขึ้นทั่วโลก โดยมีผู้ผลิตหลักตั้งอยู่ในประเทศจีน และยุโรปตะวันตก (Bizzari & Yokose, 2008) เมลามีนเป็นสารสังเคราะห์ โดยทั่วไปจะใช้ในอุตสาหกรรมหลายประเภทดังกล่าวข้างต้น อย่างไรก็ตาม การเพิ่มเมลามีนลงในอาหารโดยตรงนั้นไม่ได้รับการอนุมัติในสหรัฐอเมริกา

2.1.3 ผลเสียของสารเมลามีนต่อสุขภาพ

มีการรายงานว่าการสัมผัสโดยตรงกับสารเมลามีนทำให้เกิดการระคายเคือง และการสูดดมสารเมลามีนทำให้เกิดการระคายเคืองต่อระบบทางเดินหายใจได้ อีกทั้งการได้รับเมลามีนผ่านการกินจะส่งผลต่อระบบทางเดินอาหาร โดยทำให้เกิดคลื่นไส้อาเจียนและท้องเสียได้ ในกรณีที่รุนแรง อาจมีความดันโลหิตสูง บวม หรือเกิดอาการไตวายเฉียบพลัน (oliguria) (Hau, Kwan, & Li, 2009) เมลามีนเมื่อใช้ร่วมกับสารกลุ่ม triazine อื่นๆ เช่น กรดไซยานูริก จะทำให้เกิด

เป็นผลึก ที่ไม่ละลายน้ำของสารเมลามีนไฮยานูเรตในไตทำให้ไตวายในสัตว์ และ มนุษย์ (Han & Li, 2010) เมลามีนและกรดไฮยานูริกสามารถถูกดูดซึมได้อย่างรวดเร็ว และขับถ่ายออกในรูปแบบก้อนผลึกในน้ำปัสสาวะของสัตว์กระเพาะเดี่ยวเนื่องจากร่างกายไม่สามารถนำไปเผาผลาญได้ (Baynes, Barlow, Mason, & Riviere, 2010)

นับตั้งแต่ปี ค.ศ. 1958 เมลามีนได้ถูกเติมลงไปในการอาหารสัตว์ อย่างไรก็ตาม เมลามีนได้กลายเป็นสารต้องห้ามในปี ค.ศ. 1978 เนื่องจากพบว่าเมลามีนถูกไฮโดรไลซ์ได้เข้าในสัตว์เคี้ยวเอื้องและทำให้เกิดผลเสียต่อไต (Newton & Utley, 1978) ในเดือนมีนาคม ปี ค.ศ. 2004 มีรายงานเหตุการณ์ความเจ็บป่วยของสัตว์เคี้ยวเอื้องและภาวะไตวายเฉียบพลันที่เกิดขึ้นในหลายประเทศในทวีปเอเชีย เนื่องจากการบริโภคผลิตภัณฑ์อาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องที่มีส่วนผสมของสารเมลามีน โดยพบว่าผลิตจากโรงงานเพียงเดียวกันทั้งหมดที่ตั้งอยู่ในประเทศไทย ต่อมา ผู้ซื้อของไปใช้ และสัตวแพทย์ ก็ได้รายงานการเจ็บป่วยและการเสียชีวิตมากขึ้นที่อาจเกี่ยวข้องกับสัตว์เคี้ยวเอื้องที่บริโภคอาหารที่มีสารเมลามีน (Brown et al., 2007) ในปี 2008 มีรายงานเกี่ยวกับโรคที่เกิดจากอาหารที่เกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์ที่มีเมลามีนอย่างมาก เช่น นมสูตรสำหรับเด็ก โยเกิร์ตแช่แข็ง อาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง ขนม และ เครื่องดื่มกาแฟ (Andersen et al., 2008) การปนเปื้อนเมลามีนในอาหารกลายเป็นประเด็นที่ได้รับความสนใจอย่างมากในเดือนกันยายน ปี ค.ศ. 2008 เมื่อองค์การอนามัยโลก (WHO) รายงานว่าเด็กทารกและเด็กเล็กมากกว่า 47,000 คนในประเทศจีนเข้ารับการรักษานในโรงพยาบาลเนื่องจากปัญหาของระบบปัสสาวะ หลอดไตอุดตัน นิ่วในไต และ การตายของทารกหลายคนหลังจากการบริโภคนมผงที่ปนเปื้อนเมลามีน และผลิตภัณฑ์นมอื่นๆที่เกี่ยวข้อง

ทั้งนี้ เมลามีนถูกรายงานว่ามีความเป็นพิษแบบเฉียบพลันที่ต่ำ แต่ร้ายแรงถ้าหากได้รับในปริมาณที่มากเกินไป เช่น หนูที่ได้รับสารเมลามีนผ่านการรับประทานมากเกินไป 3,000 mg ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาความเป็นพิษแบบกึ่งเรื้อรังในหนู พบว่าสามารถทำให้เกิดการตายได้เมื่อบริโภคเมลามีนในระดับความเข้มข้น 18,000 มิลลิกรัม / น้ำหนักอาหาร 1 กิโลกรัม (Hau et al., 2009) ดังนั้น เพื่อความปลอดภัยต่อผู้บริโภคสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาของสหรัฐอเมริกาได้กำหนดให้พบสารเมลามีนในผลิตภัณฑ์อาหารได้ไม่เกิน 2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ppm) และ ในนมผงไม่เกิน 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ppm)

2.2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับ CDs

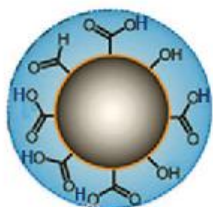
2.2.1 ความเป็นมาของ CDs

CDs ถูกค้นพบครั้งแรกในปี 2004 ในระหว่างกระบวนการทำให้ท่อนาโนคาร์บอนแบบผนังเดี่ยวบริสุทธิ์ขึ้น (Xiaoyou Xu et al., 2004) ทั้งนี้ CDs เป็นวัสดุคาร์บอนนาโนที่ถูกค้นพบ

เมื่อไม่นานมานี้ และได้รับความสนใจอย่างมากเนื่องจากคุณสมบัติทางไฟฟ้า และ ทางเคมีฟิสิกส์ ที่เฉพาะตัว ซึ่ง CDs สามารถเกิดการวาวแสงหรือให้แสงฟลูออเรสเซนซ์ได้ จึงนำไปสู่การประยุกต์ใช้ในการศึกษาและวิจัยด้านต่างๆ เช่น การตรวจจับสารเคมี biosensing, bioimaging, photocatalysis และ electrocatalysis อีกทั้ง CDs เป็นสารสังเคราะห์ที่ได้จากธรรมชาติ ราคาไม่แพง และคุณสมบัติเชิงแสงขึ้นอยู่กับขนาด มีความเสถียรทางกายภาพและทางเคมี และมีความเป็นพิษต่ำ CDs อาจประกอบด้วยหมู่เอพ็อกซี (Epoxy) ไฮดรอกซิล (Hydroxyl) และคาร์บอกซิล (Carboxyl) ที่พื้นผิวของอนุภาค โดยมีออกซิเจนประมาณ 5% ถึง 50% โดยน้ำหนักขึ้นอยู่กับวิธีที่ใช้ในการสังเคราะห์ (Demchenko & Dekaliuk, 2013) ซึ่งหมู่ฟังก์ชันเหล่านี้ทำให้ CDs สามารถละลายน้ำได้ดี ทำให้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในงานต่างๆได้อย่างหลากหลาย

2.2.2 คุณสมบัติและลักษณะของ CDs

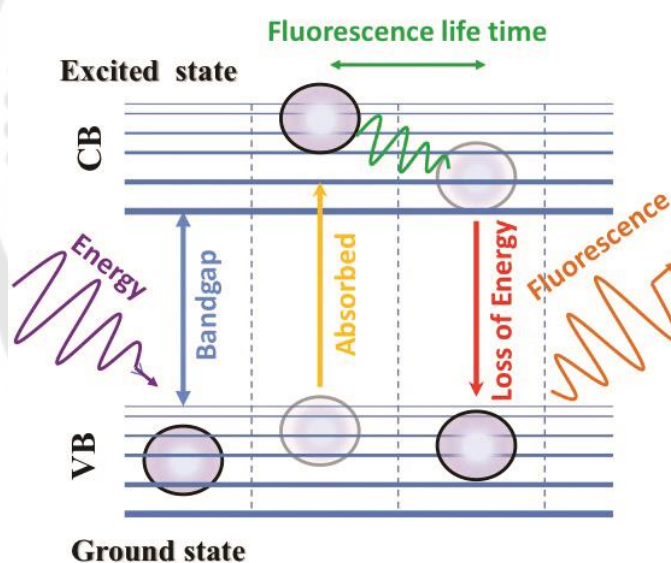
CDs เป็นวัสดุคาร์บอนนาโนซึ่งมีคุณสมบัติที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัวมีโครงสร้างที่มีลักษณะเป็นผลึกขนาดนาโนเมตร เป็นสารประกอบที่มีคุณสมบัติเป็นสารกึ่งตัวนำ มีขนาดต่ำกว่า 10 นาโนเมตร (Monica I Rednic et al., 2015) หมู่ฟังก์ชันและโครงสร้างของ CDs สามารถกำหนดได้หลากหลายลักษณะ โดยส่วนมากจะเป็นหมู่เอพ็อกซี (Epoxy) ไฮดรอกซิล (Hydroxyl) และ คาร์บอกซิล (Carboxyl) บนพื้นผิวของ CDs (ดังภาพประกอบ 2) สามารถละลายในน้ำได้ดีเยี่ยม และ มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ (Lim, Shen, & Gao, 2015) เป็นสารสังเคราะห์จากสารอินทรีย์มีความเป็นพิษต่ำ กลไกการทำงานไม่ซับซ้อน CDs มีคุณสมบัติการวาวแสงความเข้มสูงจึงถูกประยุกต์ใช้งานในงานวิจัยด้านต่างๆ เช่น biomedicines optronics เซ็นเซอร์ และการใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ทั้งนี้พื้นผิวของ CDs มีบทบาทสำคัญต่อคุณสมบัติการวาวแสงของอนุภาคนาโนเหล่านี้ (Zuo et al., 2016) นอกจากนี้ CDs ยังมีคุณสมบัติที่โดดเด่น เช่น การนำไฟฟ้า เสถียรภาพทางเคมีสูง เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม มีคุณสมบัติเชิงแสงที่น่าสนใจ ง่ายต่อการสังเคราะห์ และ มีต้นทุนต่ำ (Namdari, Negahdari, & Eatemadi, 2017)



ภาพประกอบ 2 หมู่ฟังก์ชันที่พื้นผิวของ CDs

ที่มา: (C. X. Guo, Zhao, Zhao, Wang, & Lu, 2014)

เนื่องจากมีวิธีในการสังเคราะห์ CDs ที่หลากหลาย ทำให้ได้ขนาดของอนุภาคและรูปร่างที่มีความแตกต่างกัน จึงทำให้การวาวแสงของ CDs มีความแตกต่างกัน นอกจากนั้น การวาวแสงยังขึ้นอยู่กับหมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิวของ CDs ที่ปลดปล่อยพลังงานแสงฟลูออเรสเซนซ์ออกมา (Baker & Baker, 2010) รวมถึงองค์ประกอบและปัจจัยอื่น ๆ ภายในโครงสร้างของ CDs (Smith & Nie, 2009) โดย CDs นั้นสามารถเกิดการวาวแสงได้ที่ช่วงความยาวคลื่นที่หลากหลาย คือให้สีที่สามารถมองเห็นได้แตกต่างกัน เช่น สีน้ำเงิน, เขียว, เหลือง และ แดง เป็นต้น (Zuo et al., 2016) ทั้งนี้กลไกพื้นฐานในการเกิดการวาวแสงเกิดขึ้นได้เมื่ออิเล็กตรอนในสภาวะพื้น (ground state) ได้รับพลังงานจากแสงความยาวคลื่นที่เหมาะสม ทำให้อิเล็กตรอนเกิดการดูดกลืนพลังงานแสงนั้นแล้วมีพลังงานที่สูงขึ้น ส่งผลให้อิเล็กตรอนสามารถขึ้นไปอยู่ในออร์บิทัล (orbital) ที่มีระดับชั้นพลังงานที่สูงขึ้นได้ และเมื่อไม่มีการให้พลังงานกระตุ้นอย่างต่อเนื่อง อิเล็กตรอนนั้นจะคายพลังงานออกมาในรูปของแสงเพื่อกับลงมาสู่สภาวะพื้นอีกครั้ง ดังภาพประกอบ 3



ภาพประกอบ 3 การวาวแสงของ CDs

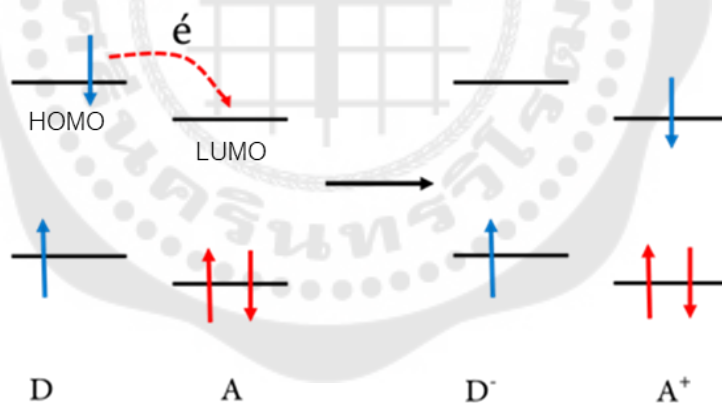
ที่มา: (Michalska, Coy, Flak, & rzysiecka, 2016)

การวาวแสงของ CDs ซึ่งถูกนำมาใช้ในการตรวจวัดสารที่ต้องการวิเคราะห์นั้น อาศัยกลไกในการการเปลี่ยนแปลงการวาวแสงผ่านกระบวนการต่างๆ เช่น การถ่ายโอนอิเล็กตรอน (Photo-induced electron transfer) การถ่ายโอนพลังงาน (Forster resonance energy

transfer) การถ่ายโอนประจุ (Photo-induced charge transfer) และ Inner filter effect (IFE) (X. Sun & Lei, 2017)

1) การถ่ายโอนอิเล็กตรอน (Photo-induced electron transfer (PET))

PET เป็นกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยารีดอกซ์ระหว่าง CDs กับสารที่ต้องการวิเคราะห์ ซึ่งเกิดจากการถ่ายโอนอิเล็กตรอนในสถานะกระตุ้นของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง CDs กับ analyte ทำให้อิเล็กตรอนในสารประกอบเชิงซ้อนนั้นสามารถกลับสู่สภาวะพื้นโดยไม่มีการปล่อยอนุภาคของแสงออกมา ในกระบวนการของ PET นี้ แบ่งออกเป็น 2 ประเภทหลัก ได้แก่ reductive และ oxidative โดย reductive PET หมายความว่า CDs เป็นตัวรับอิเล็กตรอนจาก analyte ซึ่งเกิดจากการถ่ายโอนอิเล็กตรอนจาก highest occupied molecular orbitals (HOMO) ของตัว analyte (quencher) กับ lowest unoccupied molecular orbitals (LUMO ของ CDs ส่วนในกรณีของการเกิดแบบ oxidative PET นั้นหมายความว่า CDs เป็นตัวให้อิเล็กตรอนแก่ analyte ซึ่งเกิดจากการถ่ายโอนอิเล็กตรอนระหว่างช่วงว่างพลังงาน HOMO ของตัว CDs ไปยัง LUMO ของ quencher ดังภาพประกอบ 4



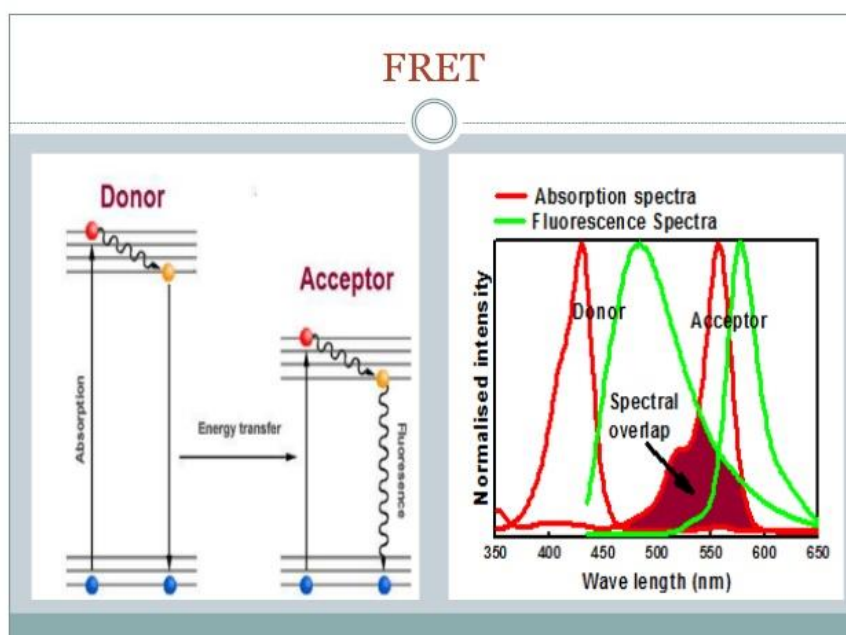
ภาพประกอบ 4 การถ่ายโอนอิเล็กตรอน โดย D คือสารให้อิเล็กตรอน และ A คือสารรับอิเล็กตรอน

ที่มา: (Ward, 1997)

2) การถ่ายโอนพลังงาน (Förster Resonance energy transfer (FRET))

เป็นการถ่ายโอนพลังงานระหว่างสารที่ใช้ในการตรวจวัดกับสารวิเคราะห์ ในทฤษฎีของ FRET คือ โมเลกุลเริ่มต้นเมื่อถูกกระตุ้นขึ้นไปยังสถานะกระตุ้น แล้วมีการคายพลังงาน

ออกมา ซึ่งพลังงานงานนั้นมีค่าพอเหมาะที่สารที่ต้องการวิเคราะห์สามารถดูดกลืนได้ ทำให้เกิดการถ่ายโอนพลังงานให้กับสารวิเคราะห์ และส่งผลในการกระตุ้นอิเล็กตรอนของสารที่ต้องการวิเคราะห์สู่สภาวะกระตุ้นได้ หลังจากนั้นโมเลกุลเริ่มต้นที่ถูกกระตุ้นก็จะกลับสู่สภาวะพื้น ดังภาพประกอบ 5 ในกระบวนการนี้อันตรกิริยาระหว่างตัวของสารตัวให้และตัวรับพลังงานที่สภาวะกระตุ้น สามารถเกิดขึ้นได้ผ่านกระบวนการที่เป็น long-range dipolar interaction ทั้งนี้ ตามทฤษฎีของ FRET อัตราการถ่ายโอนพลังงานขึ้นอยู่กับ 1) การจัดเรียงตัวในการเกิดอันตรกิริยาของตัวระหว่างตัวให้และตัวรับพลังงาน 2) การซ้อนเหลื่อมของพื้นที่ fluorescence emission spectrum ของตัวให้พลังงาน (the fluorophore) และพื้นที่ absorption spectrum ของตัวรับพลังงาน (the analyte) และ 3) ระยะห่างระหว่างตัวให้และตัวรับพลังงาน ทั้งนี้ สำหรับการถ่ายโอนพลังงานนั้นโดยทั่วไปจะทำให้เกิดกระบวนการระงับการวาวแสง (quenching process) คือการวาวแสงลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ quencher ทั้งนี้ ในการถ่ายโอนพลังงาน ของ CDs เกิดขึ้นในระหว่างสภาวะกระตุ้นของ CDs และสภาวะพื้นของตัว quencher แล้วช่วงความยาวคลื่นในการวาวแสงของ CDs สามารถถูกดูดกลืนได้โดยตัว quencher เนื่องจากมีช่วงความยาวคลื่นที่ซ้อนทับกัน ทั้งนี้การถ่ายโอนพลังงานแบบนี้สามารถเกิดขึ้นได้แบบ long range dipole-dipole interactions ระหว่าง CDs และ ตัว quencher ในช่วงระยะ 10 Å – 100 Å (Lakowicz, 2013)



ภาพประกอบ 5 การถ่ายโอนพลังงานระหว่างสารที่ใช้ในการตรวจวัดกับสารวิเคราะห์ ตามทฤษฎีของ FRET

ที่มา: (Hussain, 2009)

3) การถ่ายโอนประจุ (Photo-induced charge transfer (PCT))

กลไกนี้เกี่ยวข้องกับการถ่ายโอนอิเล็กตรอนระหว่างตัวให้และตัวรับอิเล็กตรอน ซึ่งส่งผลให้กระตุ้นการวาวแสงเพิ่มขึ้น ทั้งนี้ระบบของการเกิด PCT มีการถ่ายโอนประจุบางส่วนภายในโมเลกุลที่เป็น π คอนจูเกตแบบเต็มวง ในกลไกการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างตัวให้และตัวรับจะนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานของอิเล็กตรอน และ เป็นสาเหตุทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณการเรืองแสง ทั้งนี้ความแตกต่างระหว่างระบบ PCT และ PET คือ โมเลกุลของตัว receptor และโมเลกุลที่วาวแสง (Fluorophore) จะอยู่ติดกันในกรณีของ PCT ในขณะที่กลไกแบบ PET นั้น ตัวให้อิเล็กตรอนสามารถมีช่องว่างกับโมเลกุลที่วาวแสงได้

4) Inner filter effect (IFE)

สารประกอบฟลูออเรสเซนต์ที่มีความเข้มข้นสูงเกินไปทำให้เกิดการบดบังพลังงานแสงที่ใช้ในการกระตุ้นพลังงานฟลูออโรฟอร์ โดยโมเลกุลของฟลูออโรฟอร์อื่นๆด้วยตนเอง ทำให้การเกิดวาวแสงฟลูออเรสเซนต์ได้น้อยกว่าที่ควรจะเป็น

2.2.3 วิธีในการสังเคราะห์ CDs

มีการเสนอวิธีการมากมายเพื่อเตรียม CDs ในช่วงทศวรรษที่ผ่านมา ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็นวิธีแบบ “Top-down” และ “Bottom-up” โดยคาร์บอนดอทที่เตรียมขึ้นสามารถทำการปรับเปลี่ยนโครงสร้างได้ทั้งในระหว่างการสังเคราะห์หรือหลังการสังเคราะห์ อย่างไรก็ตามพบว่าในการเตรียม CDs มักประสบปัญหาหลักๆ 3 ข้อ ดังนี้ (1) การรวมตัวของคาร์บอนในช่วงการทำให้เป็นอนุภาคของธาตุคาร์บอน ซึ่งสามารถหลีกเลี่ยงได้โดยการใช้การสังเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้า การเผาโดยใช้ความร้อน (pyrolysis) (2) การควบคุมขนาดและความสม่ำเสมอที่สามารถทำได้ยาก ซึ่งการควบคุมขนาด เป็นที่สำคัญสำหรับคุณสมบัติที่สม่ำเสมอ โดยสามารถคัดแยกขนาดของอนุภาคได้หลังกระบวนการสังเคราะห์ เช่น เจลอิเล็กโทรโฟเรซิส (Gel electrophoresis) การหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) และการแพร่ผ่านรูพรุนขนาดเล็ก (dialysis) และ (3) การควบคุมคุณสมบัติพื้นผิวของ CDs ซึ่งมีความสำคัญต่อความสามารถในการละลาย และการเลือกใช้งานหรือความจำเพาะเจาะจงในการใช้งาน ซึ่งสามารถปรับได้ระหว่าง หรือหลังการสังเคราะห์ (Y. Wang & Hu, 2014)

สำหรับการสังเคราะห์ CDs มีหลายวิธีในการเตรียม ซึ่งคุณสมบัติของ CDs ในแต่ละวิธีที่สังเคราะห์ก็มีความแตกต่างกัน ดังนี้

2.2.3.1 การระเหิดด้วยเลเซอร์ (Laser ablation)

วิธีนี้เป็นวิธีการระเหิดด้วยเลเซอร์ของคาร์บอนที่มีไอน้ำและมีก๊าซอาร์กอนที่เป็นตัวนำพา โดย CDs ถูกสังเคราะห์ขึ้นโดยการผสมผงแกรไฟต์และซีเมนต์ด้วยการใช้ความร้อน แล้วตามด้วยการอบ บ่ม และ หลอมภายใต้บรรยากาศของแก๊สอาร์กอน (เลเซอร์ Nd: YAG Q-switch (1064 นาโนเมตร, 10 Hz) ใช้สำหรับการระเหิด) หลังจากนั้น Sun และคณะได้นำสารที่ได้ไปละลายในสารละลายกรดไนตริกที่ความเข้มข้น 2.6 โมลาร์ เป็นเวลา 12 ชั่วโมงเพื่อปรับพื้นผิวในการให้เกิดการวาวแสงที่ดี CDs ที่ได้มีอนุภาคคาร์บอนนาโนหลายขนาดรวมกันอยู่ เป็นวิธีที่รวดเร็วปรับเปลี่ยนพื้นผิวได้แต่การควบคุมขนาดไม่ดี (Y.-P. Sun et al., 2006)

ในทำนองเดียวกัน Gonçalves & da Silva, (2010) ก็สังเคราะห์ CDs โดยการระเหิดด้วยเลเซอร์โดยตรงของคาร์บอนที่ละลายในน้ำปราศจากไฮดรอกไซด์ อนุภาคของคาร์บอนที่ได้จะไม่วาวแสง หลังจากนั้นนำอนุภาคนาโนคาร์บอนที่ได้ไปละลายในสารละลายกรดไนตริกและ Reflux เป็นเวลา 12 ชั่วโมง เพื่อปรับพื้นผิวของอนุภาคนาโนคาร์บอนให้เกิดการวาวแสง จากนั้นเติมสารโพลีเอทิลีนไกลคอล (PEG200) และ Reflux ต่อเป็นเวลา 28 ชั่วโมง จากนั้นเติมกรด mercaptosuccinic และ Reflux อีกเป็นเวลา 31 ชั่วโมง จากนั้นสารละลายอนุภาคนาโนคาร์บอน

จะเปลี่ยนสีจากไม่มีสีกลายเป็นสีน้ำตาลอ่อน โดยที่อนุภาคนาโนคาร์บอนที่ได้มีขนาดเฉลี่ย 267 นาโนเมตร (Gonçalves & da Silva, 2010)

2.2.3.2 ขั้นตอนการทำให้เกิดเป็นอนุภาคของธาตุคาร์บอน (Carbonization procedure)

การสังเคราะห์ของ CDs ในวิธีนี้ส่วนใหญ่เกี่ยวข้องกับสองขั้นตอนคือ เป็นกระบวนการทำให้สารเกิดเป็นอนุภาคของธาตุคาร์บอนโดยใช้อุณหภูมิที่ต่ำ และการแยกผลิตภัณฑ์โดยการกรอง โดยวิธีนี้สามารถทำได้สะดวก ประหยัด สารที่ใช้ในการสังเคราะห์เป็นสารจากธรรมชาติ และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม เช่น Zhou และคณะได้ทำการสังเคราะห์ CDs จากเปลือกแตงโมซึ่งให้การวางแสงคุณภาพสูงผ่านอุณหภูมิ 220 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมงในสภาวะเปิด ผลิตภัณฑ์คาร์บอนที่ได้จากการสังเคราะห์ถูกแยกในน้ำโดยการ sonication กรอง แล้วการปั่นเหวี่ยง ตามลำดับ ทั้งนี้ CDs ที่ได้มีลักษณะเป็นทรงกลม สามารถละลายในน้ำได้ มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยประมาณ 2 นาโนเมตร (Zhou, Sheng, Han, Zou, & Li, 2012)

Dong และคณะ (2012) ก็ได้ทำการสังเคราะห์ CDs โดยใช้สารกรดซิตริกที่มีโพลีเอทิลีนนิเมท (BPEI) ทำให้เกิดเป็นอนุภาคของธาตุคาร์บอน ซึ่งพวกเขาใช้กรดซิตริกและ BPEI ละลายในน้ำร้อน และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ในระหว่างที่ให้ความร้อน สารก็จะเกิดเป็นเจลสีเหลืองอ่อน และเมื่อความร้อนเพิ่มขึ้นก็จะกลายเป็นสีส้ม หลังจากนั้น BPEI-CDs ถูกทำให้บริสุทธิ์โดยใช้คอลัมน์ซิลิกาเจลโครมาโทกราฟี ในวิธีนี้ CDs ที่สังเคราะห์ได้ถูกปกคลุมด้วย BPEI และมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยประมาณ 6.2 นาโนเมตร และมีการวางแสงฟลูออเรสเซนซ์ความเข้มสูง โดยมีค่า quantum yield เท่ากับ 42.5 เปอร์เซ็นต์ (Dong et al., 2012)

2.2.3.3 วิธีไฮโดรเทอร์มอล (Hydrothermal method)

ไฮโดรเทอร์มอลเป็นวิธีการให้ความร้อนแก่สารในการสังเคราะห์ CDs ในภาชนะปิดแล้วควบคุมคุณสมบัติของ CDs ด้วยอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ เช่น งานวิจัยของ Guo และคณะได้ทำการสังเคราะห์ CDs จากไซเตียมซีเตรตและแอมโมเนียมไบคาร์บอเนต ผ่านวิธีง่ายๆ ด้วยการให้ความร้อนในขั้นตอนเดียว คือนำสารมาละลายในน้ำผสมให้เข้ากันดี แล้วนำสารละลายใส่ในหม้ออบความดันสูง จากนั้นควบคุมด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 ชั่วโมง หลังจากปฏิกิริยาเสร็จสิ้นแล้ว ทำให้เย็นที่ด้วยอุณหภูมิลดลงก็จะได้ CDs ที่มีขนาด 1.59 นาโนเมตร และให้การวางแสงสีน้ำเงินสดใสภายใต้รังสียูวี โดย CDs ที่ได้นี้ถูกนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจจับไอออนของปรอทในสภาวะที่มีความเข้มข้นของเกลือสูงได้ ซึ่งบ่งบอกความจำเพาะเจาะจงที่สูง และมีความไวในการตรวจวัดสูง (Y. Guo, Wang, Shao, & Jiang, 2013) นอกจากนี้

ยังมีรายงานของ Liang และคณะในการใช้วิธีไฮโดรเทอร์มอลในการเตรียม CDs จากเจลาติน (gelatin) โดยละลายเจลาตินในน้ำที่ 40 องศาเซลเซียส จากนั้นเทลงในหม้อความดันสเตนเลสสตีล แล้วให้ความร้อนที่ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทำให้ได้สารละลายสีเหลืองอ่อนของ CDs มีขนาดอนุภาคเท่ากับ 1.7 นาโนเมตร ที่มีการวาวแสงสีน้ำเงิน และค่า quantum yield เท่ากับ 31.6 เปอร์เซ็นต์ (Q. Liang, Ma, Shi, Li, & Yang, 2013)

นอกจากนี้ กลูโคสและโมโนโพแทสเซียมฟอสเฟต (KH_2PO_4) ก็ถูกใช้เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการสังเคราะห์ CDs ด้วยวิธีให้ความร้อน โดย Yang และคณะได้ทำการสังเคราะห์โดยใช้อัตราส่วนโมลของกลูโคส / โมโนโพแทสเซียมฟอสเฟต เท่ากับ 1:36 ละลายในน้ำ แล้วให้ความร้อนที่ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 9000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เพื่อแยกส่วนของสารละลายออกจากตะกอนขนาดใหญ่ จากนั้น CDs ถูกทำให้บริสุทธิ์โดยการกรอง และล้างด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง ทั้งนี้ความเข้มข้นของ KH_2PO_4 มีบทบาทสำคัญในการควบคุมขนาดของ CDs ซึ่งจะส่งผลต่อการวาวแสงของ CDs ด้วย (Yang et al., 2011)

2.2.3.4 การสังเคราะห์ด้วยคลื่นไมโครเวฟ (Microwave-assisted method)

เครื่องไมโครเวฟเป็นแหล่งกำเนิดพลังงานคลื่นความถี่สูง โดยคลื่นไมโครเวฟเกิดจากแมกนีตรอนสร้างพลังงานออกมาในช่วงคลื่นไมโครเวฟ แล้วส่งต่อไปยังท่อนำคลื่น และส่งต่อไปยังตัวอย่างภายในช่องใส่ตัวอย่างของไมโครเวฟ เมื่อคลื่นไมโครเวฟเคลื่อนที่ผ่านตัวอย่างโมเลกุลที่มีขั้ว จะส่งผลให้โมเลกุลมีขั้วเกิดการสั่นสะเทือน เกิดแรงเสียดทาน และเกิดการชนกับโมเลกุลข้างเคียงจึงเกิดเป็นความร้อนขึ้น โดยโมเลกุลที่มีขั้วแต่ละชนิดจะมีการดูดซับพลังงานที่ต่างกันทำให้การเกิดความร้อนต่างกันด้วย สารที่มีความมีขั้วสูงจะสามารถดูดซับพลังงานได้ดีกว่าสารที่มีขั้วน้อย ตัวอย่างโมเลกุลที่มีขั้วที่ดูดซับพลังงานได้ดี เช่น น้ำ เมทานอลและกรดอะซิติก ส่วนโมเลกุลที่มีขั้วที่ดูดซับพลังงานได้ไม่ดี เช่น dioxane

การใช้คลื่นไมโครเวฟในการสังเคราะห์ CDs เป็นวิธีที่ง่าย สะดวก รวดเร็ว และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เนื่องจากเป็นวิธีที่ให้ความร้อนแบบการฉายรังสีด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความถี่สูงทำให้สารได้รับความร้อนในทุกทิศทุกทาง และ ทำให้สารเกิดปฏิกิริยาได้เร็วขึ้น ดังนั้นวิธีนี้จึงเป็นที่นิยมเพื่อใช้ในการสังเคราะห์ CDs จากสารตั้งต้นต่างๆ เช่น งานวิจัยของ Xiao และคณะ (2013) ได้ทำการสังเคราะห์อนุภาคนาโนคาร์บอนจาก 1-butyl-3-methylimidazoliumtetrafluoroborate ([Bmim] BF_4) กระบวนการนี้เป็นวิธีที่ง่ายสำหรับการเตรียมอนุภาคนาโนคาร์บอนขนาดใหญ่ โดยให้ความร้อนในเตาไมโครเวฟที่กำลัง 700 วัตต์ หลังจากนั้นก็นำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อกำจัดของแข็งที่แขวนลอย จะได้สารละลายสีเหลืองน้ำตาลของ CDs ที่มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยประมาณ

4.25 ± 1.85 นาโนเมตร มีรูปร่างเป็นทรงกลมที่สม่ำเสมอ อนุภาคนาโนเหล่านี้สามารถใช้ในการวิเคราะห์ทางชีวการแพทย์และสิ่งแวดล้อมได้ เนื่องจากความเป็นพิษต่อเซลล์ต่ำ และให้แสงฟลูออเรสเซนซ์ที่มีความเข้มสูง โดยอนุภาคนาโนนี้ถูกประยุกต์ใช้สำหรับการตรวจสอบสารเคอซีติน (quercetin) (Xiao, Yuan, He, & Gao, 2013)

นอกจากนี้ Lin และคณะ (2012) ได้ใช้กรดแอมิโน (เซรีน) เป็นแหล่งคาร์บอนในการสังเคราะห์ โดยมีโพลีเอทิลีนไกลคอล 1500 (PEG 1500) และกลีเซอรินเป็นสารร่วมในการสังเคราะห์ โดยในขั้นตอนแรกเครื่องไมโครเวฟจะทำให้เกิดการคายน้ำ และ จากนั้นเกิดการไพโรไลซิส ทำให้สารแตกเป็น CDs ขนาดเล็กที่เรืองแสง เวลาในการใช้เครื่องไมโครเวฟมีผลต่อขนาดของจุดคาร์บอน โดยพบว่าทำให้ความร้อนในช่วง 5 ถึง 20 นาทีในการสังเคราะห์ CDs มีขนาด 3-4 นาโนเมตร และมีการวาวแสงสีเขียวภายใต้รังสีอัลตราไวโอเลต (365 นาโนเมตร) โดยมีค่าการวาวแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 440 นาโนเมตร เมื่อกระตุ้นด้วยพลังงานแสงที่มีความยาวคลื่น 360 นาโนเมตร (Lin, Xue, Chen, & Lin, 2012) Chandra และคณะ ได้เสนอการสังเคราะห์คาร์บอนดอทในขั้นตอนเดียว ด้วยไมโครเวฟ ที่กำลัง 100 วัตต์ เป็นเวลา 3 นาที 40 วินาที โดยใช้ซูโครสกับกรดฟอสฟอริกเป็นสารตั้งต้น พบว่าอนุภาคของคาร์บอนดอทที่สังเคราะห์ได้มีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 3-10 นาโนเมตร และมีการวาวแสงสีเขียว โดยถูกนำไปใช้สำหรับตรวจวัดสารทางชีวภาพได้ (Chandra, Das, Bag, Laha, & Pramanik, 2011) และ Salinas-Castillo ก็ได้สังเคราะห์ CDs ที่อุณหภูมิต่ำ โดยใช้กรดซิตริก และ polyethylenimine (PEI) เป็นสารตั้งต้น ที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ที่กำลัง 850 วัตต์ จากนั้นละลายด้วยน้ำแล้วกรอง ก็จะได้สารละลาย CDs ที่มีสีเหลือง และมีขนาดประมาณ 12 นาโนเมตร

2.2.4 การใช้ประโยชน์ของ CDs ในเชิงการตรวจวัดทางเคมีวิเคราะห์

CDs ได้รับความสนใจจากนักวิจัยทั่วโลกอย่างมากในช่วงเวลาที่ผ่านมานี้ เนื่องจากเป็นอนุภาคนาโนที่มีสมบัติทางไฟฟ้า และ ทางเคมีฟิสิกส์ เช่น คุณสมบัติทางแสง และ การปล่อยแสงฟลูออเรสเซนซ์ ดังนั้น จึงเป็นที่นิยมสำหรับการนำไปประยุกต์ใช้อย่างกว้างขวางในงานวิจัยด้านต่างๆ เช่น การสังเคราะห์ CDs ประยุกต์ใช้ด้านการวิจัยเพื่อตรวจวิเคราะห์สารที่ต้องการ

2.2.4.1 การตรวจวัดสารปนเปื้อนในตัวอย่างสิ่งแวดล้อม

เป็นการตรวจวัดปริมาณของสารในกลุ่มไอออนของโลหะหนักที่ละลายอยู่ในน้ำ เช่น ไอออนทองแดง ไอออนเหล็ก ไอออนปรอท และอื่นๆ เป็นต้น ซึ่งอาจจะส่งผลกระทบต่อผู้ใช้น้ำ หรือสัตว์น้ำต่างๆ ที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำนั้นๆ ได้ ทั้งนี้การตรวจวัดปริมาณการปนเปื้อนของโลหะหนักในธรรมชาติเป็นการเฝ้าระวังและควบคุมความปลอดภัย เช่น งานวิจัยของ Zong และคณะ, (2014) ได้ทำการตรวจวิเคราะห์หาคอปเปอร์ไอออน (Cu^{2+}) และ L-cysteine (L-Cys) ในน้ำ

ตัวอย่างด้วย CDs ซึ่งในงานวิจัยดังกล่าวได้แสดงให้เห็นถึงวิธีการตรวจวัดแบบ “off – on” สำหรับการตรวจจับ Cu^{2+} และ L-cysteine โดยใช้คุณสมบัติเชิงแสงของ CDs โดยตรวจวัดระดับการลดลง และเพิ่มขึ้นของการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์ ตามลำดับ โดยเมื่อเติม Cu^{2+} ลงไปในสารละลาย CDs แล้ว Cu^{2+} จะไปจับที่พื้นผิวหน้าของ CDs ทำให้แสงฟลูออเรสเซนซ์ลดลงตามความเข้มข้นของ Cu^{2+} ที่เติมลงไป และในการตรวจวัด L-Cys นั้นก็สามารถทำได้ เนื่องจาก CDs- Cu^{2+} นั้นจะมีความไวต่อ L-Cys ดังนั้น เมื่อเติม L-Cys ลงไป L-Cys จะสามารถจับกลับ Cu^{2+} ได้ดี ทำให้ Cu^{2+} หลุดออกจากพื้นผิวหน้าของ CDs ทำแสงฟลูออเรสเซนซ์กลับเพิ่มสูงขึ้นมา ความสามารถในการจับกันของ CDs กับไอออนโลหะถูกตรวจสอบโดยการเปรียบเทียบความเข้มของฟลูออเรสเซนซ์ของ CDs ก่อน และหลังการเติมไอออนของโลหะ วิธีนี้ง่าย รวดเร็ว ต้นทุนต่ำ และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม โดยมีค่าขีดจำกัดในการตรวจจับ Cu^{2+} เท่ากับ 2.3×10^{-8} โมลาร์ และ 3.4×10^{-10} โมลาร์ สำหรับ L-Cys (Zong et al., 2014)

นอกจากนี้ Zhang และคณะ (2015) ก็ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณไอออนปรอทด้วย CDs เนื่องจาก ไอออนปรอทสามารถทำให้เกิดการระงับสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของ CDs ลงได้ ทั้งนี้กลไกในการระงับแสงฟลูออเรสเซนซ์อาจเกิดจากการถ่ายโอนอิเล็กตรอนแบบ nonradiative จากสถานะกระตุ้นไปยัง d-orbital ของ Hg^{2+} นำไปสู่การเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงหมู่ฟังก์ชัน Amide (–CONH–) จากโครงสร้าง spirolactam ไปเป็น amide แบบวงเปิด ซึ่งเป็นสาเหตุในการเกิดการระงับการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์ โดยงานวิจัยนี้รายงานค่าขีดจำกัดการตรวจวัดที่ความเข้มข้น 0.23 ไมโครโมลาร์ (Y Zhang et al., 2015)

2.2.4.2 การตรวจวัดสารกลุ่ม biomarker

เป็นการตรวจวัดสารชีวภาพจากร่างกายของสิ่งมีชีวิต เพื่อติดตามและควบคุมการเกิดโรค เช่น งานวิจัยของ Khakbaz และคณะ (2017) ได้ทำการตรวจวัดไมโครอาร์เอ็นเอ (miRNA) โดยใช้ DNA-CDs ผ่านกระบวนการถ่ายโอนพลังงานการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์ และเป็นการสังเคราะห์ CDs อย่างง่ายแบบขั้นตอนเดียว ที่มีประสิทธิภาพสำหรับการตรวจจับ miRNA โดยกลไกการตรวจวัดนั้นขึ้นอยู่กับการดูดซับของ DNA สายเดี่ยว (ss-DNA) ที่ติดกับ 6-fluorescein amidite (6-FAM) บน CDs ผ่านแรงยึดเหนี่ยวชนิด π - π ซึ่งทำให้เกิดการระงับการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์ ซึ่งสามารถใช้ CDs ในการตรวจวัดไมโครอาร์เอ็นเอ (mir 9-1) ในปัสสาวะเพื่อการตรวจหามะเร็งเต้านมระยะแรกได้ (Khakbaz & Mahani, 2017)

นอกจากนี้ Das และคณะ (2018) ได้ใช้คุณสมบัติการวาวแสงของ CDs ในการตรวจวัดอะซิโตนในของเหลวของมนุษย์ ซึ่งในงานวิจัยนี้นักวิจัยได้ใช้ไนโตรเจนและซัลเฟอร์ในการ

ปรับพื้นผิวของ CDs ทำให้เกิดคุณสมบัติการเรืองแสงที่โดดเด่น และมีความจำเพาะสำหรับการตรวจวัดอะซิโตน ในตัวอย่างเลือด และน้ำปัสสาวะของมนุษย์ โดยกลไกการตรวจวัดอะซิโตนเกิดจากการถ่ายโอนพลังงานในสถานะกระตุ้นของ CDs ไปถึงอะซิโตน ในการทำงานร่วมกันของอะซิโตนกับ CDs ทำให้สูญเสียสัดส่วนการวาวแสงอย่างถาวร และ การตรวจวัดอะซิโตนขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพการระงับการวาวแสง (quenching) ของโมเลกุลอะซิโตน ในวิธีนี้สามารถตรวจวัดได้ต่ำสุดคือ 7.2×10^{-7} โมลาร์ (Das et al., 2018)

2.2.4.3 การตรวจวัดสารปนเปื้อนในตัวอย่างอาหาร

เป็นการตรวจวัดสารที่ปนเปื้อนกับอาหาร ซึ่งอาจเกิดขึ้นจากกระบวนการผลิตโรงงาน สถานที่ผลิต หรือ สารเคมีต่างๆ ที่เติมลงไป ในอาหารที่เกินมาตรฐานที่กำหนด ซึ่งอาจทำให้เกิดผลกระทบต่อผู้บริโภค เช่น งานวิจัยของ Hou และคณะ (2016) เป็นการสังเคราะห์โพลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลบนผิวควอนตัมคาร์บอนดอทอย่างง่ายภายใต้สภาวะการให้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟ สำหรับการตรวจวัดเตตระไฮดรีน (TC) ซึ่งเป็นสารที่ถูกใช้อย่างแพร่หลายในการเลี้ยงปศุสัตว์ เพื่อป้องกันและรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรีย รวมถึงการใส่ลงในอาหารเพื่อเร่งการเจริญเติบโตของปศุสัตว์ ทั้งนี้ การใช้ TC ในปริมาณที่มากเกินไป ส่งผลให้เกิดการตกค้างและเกิดการสะสมของยาปฏิชีวนะในผลิตภัณฑ์จากสัตว์ได้ โดยสารตกค้างนี้ยังอาจส่งผลให้เกิดเชื้อดื้อยาขึ้นได้ ซึ่งขีดจำกัดในการตรวจวัดนี้ เท่ากับ 5.48 นาโนโมลาร์ (Hou et al., 2016)

ในปี ค.ศ. 2016 Xu และคณะ ได้เสนอวิธีการแบบใหม่โดยใช้กระบวนการ non-hydrolytic sol-gel (NHS) เพื่อสังเคราะห์โพลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลบนผิวควอนตัมคาร์บอนดอทโดยการใช้ปฏิกิริยาแบบขั้นตอนเดียวสำหรับการตรวจวัด Sterigmatocystin (ST) ซึ่งเป็นสารเมตาบอไลต์ชนิดทุติยภูมิของเชื้อรา *Aspergillus* หลายชนิดที่มีการกระจายอย่างกว้างขวางในแหล่งอาหารและอาหารสัตว์ต่างๆ โดยเฉพาะในธัญพืช เช่น ข้าวสาลี ข้าวโพด และ ข้าวฟ่าง ซึ่งอาจก่อให้เกิดผลเสียอย่างร้ายแรงต่อสุขภาพมนุษย์และปศุสัตว์ที่บริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนสาร ST นอกจากนี้ ST ยังมีผลต่อการทำงานของตับ ไต และมีแนวโน้มที่จะส่งผลต่อการเกิดมะเร็งในหลอดอาหาร กระเพาะ และตับอีกด้วย ในวิธีนี้ โพลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลบนผิวควอนตัมคาร์บอนดอท มีค่าการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์ลดลงอย่างเป็นเส้นตรงตามความเข้มข้นของ ST ที่เพิ่มขึ้น ในช่วงระหว่าง 0.05 ถึง 2.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยมีค่าต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ของสาร ST เท่ากับ 0.019 ppm และค่าร้อยละการคืนกลับระหว่าง 92.0 ถึง 102.5 % วิธีนี้สามารถทำได้ง่าย มีความจำเพาะเจาะจง และความไวสูงในการตรวจวัด อีกทั้งยังมีราคาไม่แพงอีกด้วย (L. Xu, Fang, Pan, Wang, & Wang, 2016)

2.2.5 คุณสมบัติและการประยุกต์ใช้ CDs ที่สังเคราะห์จากกรดซิตริกและยูเรียเพื่อการตรวจวัด

Kasprzyk และคณะ (2018) ได้ทำการสังเคราะห์ CDs จากกรดซิตริกและยูเรียผ่านการให้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟแบบระบบปิดและเปิด ซึ่ง CDs ที่ได้มีคุณสมบัติในการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่แตกต่างกัน โดย CDs จากระบบปิดให้การวาวแสงสีฟ้า มีค่าการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์สูงสุดที่ความยาวคลื่น 455 นาโนเมตร ในขณะที่ CDs ที่ได้จากการสังเคราะห์ในระบบเปิด ให้การวาวแสงสีเขียว มีค่าการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์สูงสุดที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร นอกจากนี้ Kasprzyk และคณะ ยังได้ศึกษาหมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิวของ CDs ที่สังเคราะห์ได้จากทั้งสองระบบ พบว่าทั้งสองระบบประกอบด้วยหมู่ฟังก์ชันพื้นฐานที่เหมือนกันได้แก่หมู่ $-OH$ $-NH_2$ และ $-COOH$ และยังประกอบด้วยหมู่ฟังก์ชันสำคัญที่ส่งผลต่อการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ต่างกันคือ หมู่ฟังก์ชัน Citraczinic acid บนผิวของ CDs ที่สังเคราะห์ผ่านระบบปิด ส่วนระบบเปิดพบ หมู่ฟังก์ชัน เป็น 4-hydroxy-1H-pyrrolo[3,4-c]pyridine-1,3,6 (2H,5H)-trione (HPPT) (Kasprzyk et al., 2018)

มีรายงานการนำ CDs ที่สังเคราะห์จากกรดซิตริกและยูเรียไปใช้ในการตรวจวัดปริมาณของสารประกอบอินทรีย์ ดังนี้: Simoes และคณะ (2016) ได้ใช้ CDs ที่เตรียมจากกรดซิตริกและยูเรียเพื่อใช้ในการตรวจวัด ไฮโปคลอไรต์ (hypochlorite) และเพอร์ออกซิไนไตรต์ (peroxynitrite) ในงานวิจัยนี้นักวิจัยได้ทำการสังเคราะห์ CDs โดยใช้กรดซิตริก 1 กรัม และยูเรีย 3 กรัม ละลายในน้ำปริมาตร 15 มิลลิลิตร ผ่านการให้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟที่กำลัง 700 วัตต์ ใช้เวลา 5 นาที CDs ที่ได้ให้ค่าความยาวในการวาวแสงและให้ค่าควอนตัม yields ที่แตกต่างกัน ซึ่งขึ้นอยู่กับพลังงานกระตุ้นที่ใช้ในการกระตุ้นดังนี้ ให้พลังงานกระตุ้นที่ 400 นาโนเมตร จะปล่อยพลังงานออกมาที่ 520 นาโนเมตร ให้ผลควอนตัม yields 8% เมื่อให้พลังงานกระตุ้นที่ 360 นาโนเมตร จะปล่อยพลังงานออกมาที่ 451 นาโนเมตร ให้ผลควอนตัม yields 10% และ เมื่อให้พลังงานกระตุ้นที่ 350 นาโนเมตร จะปล่อยพลังงานออกมาที่ 420 นาโนเมตร ให้ผลควอนตัม yields 12% หลังจากนั้น เมื่อนำไปทดสอบการระงับการวาวแสงด้วยไฮโปคลอไรต์และเพอร์ออกซิไนไตรต์พบว่า ไฮโปคลอไรต์ มีความไวในการระงับการวาวแสงของ CDs ได้สูงสุดที่ค่า pH 4 และมีขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้เท่ากับ $0.5 \mu M$ ส่วนเพอร์ออกซิไนไตรต์สามารถระงับการวาวแสงของ CDs ได้สูงสุดที่ค่า pH 9 และมีขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้เท่ากับ $1.5 \mu M$ (Simões, Leitão, & da Silva, 2016)

นอกจากนี้ Wang และคณะ (2019) ได้ประยุกต์ใช้คุณสมบัติทางแสงของ CDs ที่สังเคราะห์จากกรดซิตริกและยูเรียเพื่อเป็นตัวตรวจวัดเฟอรริไซยาไนด์ในน้ำ ซึ่งในงานวิจัยนี้นักวิจัย

ได้ทำการสังเคราะห์ CDs โดยใช้กรดซัลฟิวริก 1 กรัม และยูเรีย 3 กรัม ละลายในน้ำปริมาตร 15 มิลลิลิตร ผ่านการให้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟที่กำลัง 700 วัตต์ ใช้เวลา 5 นาที จากนั้นนำไปละลายในน้ำ 60 มิลลิลิตร แล้วกลองผ่าน polyethersulfone membrane 0.22 μm CDs ที่ได้มีขนาดค่อนข้างสม่ำเสมอโดยมีช่วงการกระจาย 1.1–4.1 นาโนเมตรและเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยเป็น 2.4 นาโนเมตร และ ดูดกลืนพลังงานที่ 410 นาโนเมตรแล้วให้สัญญาณการรบกวนแสงที่ 520 นาโนเมตร โดยให้ผลควอนตัม yields 5.3% ซึ่งสามารถตรวจวัดฟลูออโรไซยาไนด์ได้ต่ำสุดที่ 1.7 μm และช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วง 5–100 μm (T. Wang et al., 2019)

2.3. การตรวจวิเคราะห์เมลามีน

มีรายงานวิธีในการตรวจวิเคราะห์เมลามีนโดยใช้เครื่องมือที่ทันสมัย เช่น คาปิลลารีอิเล็กโตรโฟรีซิส (Capillary electrophoresis), สเปกโทรสโกปีเรโซแนนซ์แม่เหล็กนิวเคลียร์ (nuclear magnetic resonance (NMR)), โครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC), โครมาโตกราฟีแบบของเหลวร่วมกับแมสสเปกโตรเมตรี (LC-MS / MS), แก๊สโครมาโตกราฟีร่วมกับแมสสเปกโตรเมตรี (GC /MS) และ การใช้เทคโนโลยีเซ็นเซอร์ในการตรวจวัด ดังนี้

วิธีการคาปิลลารีอิเล็กโตรโฟรีซิส (Capillary electrophoresis) แยกเมลามีนโดยการใช้สนามไฟฟ้าแรงสูง เพื่อแยกโมเลกุลตามความแตกต่างของประจุ ขนาด และ ความสามารถในการละลายน้ำ เป็นวิธีการวิเคราะห์ที่คุ้มค่าและมีประสิทธิภาพซึ่งใช้สำหรับโมเลกุลขนาดเล็กสามารถแยกได้รวดเร็ว และใช้ตัวอย่างในปริมาณน้อยๆในการวิเคราะห์ อีกทั้งมีความไวในการวิเคราะห์ที่สูง (F. Sun et al., 2010)

Venkatasami & Sowa, (2010) ได้ทำการตรวจวัดเมลามีนด้วยวิธีโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) สามารถตรวจวัดเมลามีนในผลิตภัณฑ์นมสำหรับทารกประเภทต่างๆได้อย่างมีประสิทธิภาพ การแยกจะดำเนินการในคอลัมน์ Kromasil C18 (150 มม. $\times$ 3.2 มม. ID. ขนาดอนุภาค 5 ม.) ที่อุณหภูมิห้อง เฟสเคลื่อนที่ (0.1% TFA / Methanol 90:10) ที่อัตราการไหล 0.3 มิลลิลิตรต่อนาที แล้วทำการตรวจวัดสัญญาณที่ความยาวคลื่น 240 นาโนเมตร สามารถตรวจวัดความเข้มข้นของเมลามีนตั้งแต่ 5-40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Venkatasami & Sowa Jr, 2010)

Bera และคณะ (2011) ได้ทำการตรวจวัดเมลามีนด้วยวิธีการวัดเชิงสี เป็นวิธีการวิเคราะห์ที่มีความไวสูงด้วยการใช้อนุภาคนาโนทองคำ (AuNPs) ร่วมกับการดัดแปลงผิวหน้าของ AuNPs ด้วย uracil-5-carboxylic acid (UCA) และ 2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid

(TNBS) ซึ่งสามารถตรวจวัดเมลามีนในระดับต่ำ (ppb) ทั้งนี้กลไกการเปลี่ยนแปลงสีเกิดจากการถ่ายเทพะจุระหว่างอนุภาคนาโนทองคำ (AuNPs) กับ uracil-5-carboxylic acid (UCA) และ 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS) โดยหมู่ nitroaromatics ที่อยู่ในโครงสร้าง TNBS ที่ผิวของ AuNPs จะเกิดการถ่ายโอนประจุที่มีการให้และรับเพื่อให้เกิดปฏิกิริยากับหมู่เอมีนในสารเมลามีนแล้วทำให้ AuNPs เกิดการเปลี่ยนสีจากสีแดงไปเป็นสีน้ำเงินอย่างรวดเร็ว โดยวิธีนี้ให้ค่าต่ำที่ตรวจวัดได้ของเมลามีนที่ความเข้มข้น 5 ppb ซึ่งต่ำกว่าระดับความปลอดภัยที่กำหนดโดยคณะกรรมการมาตรฐานอาหารของสหประชาชาติ (Bera & Raj, 2011)

Dai และคณะ (2014) ได้นำเสนอการใช้เซ็นเซอร์ฟลูออเรสเซนซ์แบบ "turn-on" สำหรับการตรวจวัดเมลามีนโดยการถ่ายโอนพลังงานฟลูออเรสเซนซ์เรโซแนนซ์ (fluorescence resonance energy transfer) ระหว่างอนุภาค CDs ร่วมกับอนุภาคทองคำขนาดนาโนเมตร (AuNPs) โดยที่อนุภาค CDs เป็นตัวให้พลังงาน และอนุภาคนาโนทองคำ (AuNPs) เป็นตัวรับพลังงาน เมื่อเพิ่มอนุภาค CDs ลงในสารละลายอนุภาคนาโนทองคำ (AuNPs) อนุภาค CDs จะเข้าไปปิดพื้นผิวของอนุภาคนาโนทองคำ (AuNPs) ทำให้เกิดการระงับการวาวแสง แล้วเมื่อเติมเมลามีนลงไป หมู่อะมิโนบนโมเลกุลของเมลามีนจะเกิดการแข่งขันกับอนุภาค CDs ในการจับกับพื้นผิวของอนุภาคนาโนทองคำ (AuNPs) ทำให้การวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์กลับขึ้นมา ซึ่งสามารถวัดปริมาณของสารเมลามีนได้ด้วยเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ โดยพบว่าระบบการตรวจวัดนี้ให้ค่าต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ที่ความเข้มข้น 36 นาโนโมลาร์ (Dai et al., 2014) นอกจากนี้ Lei และคณะ (2016) ได้เสนอวิธีการทดสอบแบบ "Turn-on" ที่ใช้งานง่ายและมีประสิทธิภาพสำหรับการตรวจวัดเมลามีนด้วยการวาวแสงของคาร์บอนดอทเช่นเดียวกัน ในกระบวนการนี้อาศัยความสามารถของไอออนโลหะ Hg^{2+} ที่ทำให้การเรืองแสงของคาร์บอนดอทลดลงตามระดับความเข้มข้นของ Hg^{2+} หลังจากนั้นการเติมเมลามีนลงไปจะส่งผลทำให้การเรืองแสงของคาร์บอนดอทกลับเพิ่มขึ้นมา การวาวแสงของคาร์บอนดอทที่เพิ่มขึ้นนั้น เนื่องจากในวงแหวนเฮเทอโรไซคลิกของสารเมลามีนมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบอยู่หลายตำแหน่ง ทำให้สามารถเกิดปฏิกิริยากับ Hg^{2+} ส่งผลให้ Hg^{2+} หลุดออกจากพื้นผิวของคาร์บอนดอททำให้การวาวแสงเพิ่มขึ้น โดยวิธีการนี้มีค่าต่ำสุดที่ตรวจวัดสารเมลามีนได้ที่ความเข้มข้น 0.3 ไมโครโมลาร์ ซึ่งเป็นค่าที่ต่ำกว่าขององค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกาถึงประมาณ 65 เท่า (Lei et al., 2016)

ทั้งนี้ มีรายงานการศึกษาอันตรกิริยาระหว่างโครงสร้างของ Citrazinic acid กับเมลามีน ซึ่งพบว่า Citrazinic acid และเมลามีนสามารถเกิดแรงยึดเหนี่ยวกันผ่านพันธะไฮโดรเจน โดยเกิดจาก หมู่ (N-H) จากเมลามีนจับกับหมู่ $O=C<$ จาก Citraczinic acid และ หมู่ $(-N-H)$ จาก

Citracizinic acid จับกับ N จากเมลามีน (Sarkar et al., 2015) ต่อมามีการรายงานของ Kasprzyk และคณะ (2018) ที่ทำการสังเคราะห์ CDs จากกรดซิตริกและยูเรีย พบว่าได้ผลิตภัณฑ์เป็น CDs ที่มีหมู่ฟังก์ชันคล้ายกับ Citracizinic acid ซึ่งเรียกว่า 4-hydroxy-1H-pyrrolo[3,4-c]pyridine-1,3,6 (2H,5H)-trione (HPPT) บนผิวของ CDs ที่สังเคราะห์ (Kasprzyk et al., 2018) ดังนั้นผู้วิจัยจึงคาดว่าหมู่ฟังก์ชันบนผิวของ CDs เหล่านี้จะสามารถจับกับเมลามีนได้ ดังนั้น จึงนำมาสู่งานวิจัยนี้ คือการพัฒนาวิธีวิเคราะห์สำหรับการตรวจวัดเมลามีนโดยใช้ CDs ที่สังเคราะห์จากกรดซิตริกและยูเรียเป็นตัวตรวจวัด

2.4 ประเด็นของงานวิจัย

เมลามีนเป็นสารที่ทำให้เกิดเป็นโรคไตในคนและสัตว์ได้ เนื่องจากสารเมลามีนสามารถเกิดปฏิกิริยากับสารกลุ่ม Triazine อื่นๆ เช่น กรดไซยานูริก ทำให้เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ที่ไม่ละลายในน้ำ แล้วทำให้เกิดเป็นโรคไตหรือทำให้เกิดไตวายในคนและสัตว์ (Han & Li, 2010) ดังนั้นจึงมีข้อกำหนดระดับการปนเปื้อนของเมลามีนในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค ซึ่งนำมาสู่การพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์ปริมาณของเมลามีนขึ้น อย่างไรก็ตามการใช้เครื่องมือขั้นสูงที่ทันสมัยมีข้อจำกัดด้านค่าใช้จ่ายและความซับซ้อนของเครื่องมือตรวจวัด จึงเป็นที่มาของงานวิจัยนี้ ที่สนใจในการพัฒนาวิธีอย่างง่าย ราคาประหยัด แต่สามารถให้การวิเคราะห์ที่มีความไว ความจำเพาะเจาะจง และความน่าเชื่อถือสูง โดยอาศัยคุณสมบัติเชิงแสงของ CDs ในการวาวแสง ฟลูออเรสเซนซ์ที่น่าสนใจ และมีรายงานการประยุกต์ใช้สำหรับการตรวจวิเคราะห์สารสำคัญต่างๆ ทั้งในตัวอย่างทางชีวภาพ สิ่งแวดล้อม และอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพ อีกทั้ง CDs ยังเป็นสารที่มีความเป็นพิษต่ำ สังเคราะห์ได้ง่ายด้วยสารตั้งต้นและวิธีการที่หลากหลาย ทั้งนี้ เนื่องจากการใช้คลื่นไมโครเวฟในการสังเคราะห์ CDs สามารถทำได้ง่ายและรวดเร็ว จึงถูกนำมาใช้ในการศึกษาเพื่อสังเคราะห์ CDs จากกรดซิตริกกับยูเรีย สำหรับการตรวจวัดเมลามีนในผลิตภัณฑ์นมผงในแผนงานวิจัยนี้

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

งานวิจัยนี้ เป็นการศึกษาเพื่อพัฒนาวิธีตรวจสอบสารเมลามีนอย่างง่ายในผลิตภัณฑ์นมผง ด้วยอนุภาค CDs ที่สังเคราะห์ด้วยการให้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟ ผู้วิจัยได้จัดเตรียมอุปกรณ์ เครื่องมือการทดลองที่เป็นพื้นฐานของการวิจัย ที่เกี่ยวข้องตามหัวข้อต่อไปนี้

3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือการทดลอง

3.1.1 เครื่องมือ

3.1.2 สารเคมี

3.2 วิธีการสังเคราะห์ CDs

3.3 การตรวจวัดคุณสมบัติเชิงแสงของ CDs

3.4 วิธีการตรวจวัดประสิทธิภาพของ CDs ในการตรวจสอบสารเมลามีน

3.4.1 การศึกษาผลของค่า pH ที่เหมาะสม

3.4.2 การศึกษาผลของอัตราส่วน

3.4.3 การศึกษาผลของเวลา

3.5 ศึกษาประสิทธิภาพ ความแม่นยำ และความจำเพาะของ CDs ในการตรวจวัดสารเมลามีน

3.5.1 ความเป็นเส้นตรง (Linearity range)

3.5.2 ศึกษาร้อยละการคืนกลับ (%recovery)

3.5.3 ค่าต่ำสุดที่ตรวจพบได้ (LOD) และค่าต่ำสุดที่ตรวจวัดปริมาณได้ (LOQ)

3.5.4 ผลของสารรบกวนต่างๆ (Interference)

3.6 การตรวจสอบสารเมลามีนในผลิตภัณฑ์นมผง

3.6.1 การเตรียมตัวอย่างนมผงสำหรับการตรวจสอบสารเมลามีน

3.6.1.1 การเตรียมตัวอย่างนมผง

3.6.1.2 การเตรียมตัวอย่างนมผงที่มีการเติมเมลามีนมาตรฐาน

3.6.2 การตรวจสอบสารเมลามีนในผลิตภัณฑ์นมผงด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้น

3.7 การเปรียบเทียบความถูกต้องในการตรวจสอบสารเมลามีนในผลิตภัณฑ์นมผงด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นและวิธีมาตรฐาน (HPLC)

3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือการทดลอง

3.1.1 เครื่องมือ

- 1) เครื่องชั่งน้ำหนัก (Weight Scale) รุ่น ALP 513 ยี่ห้อ DINI ARGEO
- 2) เครื่องอัลตราไวโอเลต-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Vis Spectrophotometer) รุ่น UV-2450 ยี่ห้อ Shimadzu
- 3) เครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ (Spectrofluorometer) รุ่น FP-8300 series ยี่ห้อ Jasco
- 4) เครื่องไมโครเวฟ (Microwave oven) รุ่น MARS6 ยี่ห้อ CEM
- 5) เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) รุ่น Harmonic ยี่ห้อ KK
- 6) เครื่องวัดค่า pH (pH meter) รุ่น F20 ยี่ห้อ METTER TOLEDO
- 7) เครื่องสั่นสะเทือน (Sonicate) รุ่น ISOLAB ยี่ห้อ Laborgerate Gmbh
- 8) เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงและตัวตรวจวัดชนิดไดโอดแออร์เรย์ (Diode array) พร้อมด้วย sample loop ขนาด 20 ไมโครลิตร รุ่น LC-20AD ยี่ห้อ Shimadzu

3.1.2 สารเคมี

- 1) กรดซิตริกมอนอไฮเดรต ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$) จาก Fisher Chemical
- 2) กรดไทรคลอโรอะซิติก ($C_2HCl_3O_2$) จาก Fisher Chemical
- 3) น้ำ DI (H_2O Deionization)
- 4) โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) จาก UNIVAR
- 5) เมลามีน ($C_3H_6N_6$) จาก Sigma-Aldrich
- 6) ยูเรีย (Urea) จาก KEMAUS
- 7) เอทานอล (C_2H_5OH) จาก DUKSAN
- 8) ตัวอย่างนมผงที่จำหน่ายในท้องตลาด

3.2. วิธีการสังเคราะห์ CDs

วิธีที่ 1 การสังเคราะห์ CDs ในการให้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟในระบบปิด

เป็นการสังเคราะห์ CDs ที่ดัดแปลงจากวิธีการที่รายงานโดย (Kasprzyk et al., 2018; Lei et al., 2016) มีรายละเอียดดังนี้

- 1) ละลายกรดซิตริก น้ำหนักประมาณ 0.77 กรัม และ ยูเรีย น้ำหนักประมาณ 2.6 กรัม ด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 20.0 มิลลิลิตร แล้วผสมสารให้เข้ากันภายใต้คลื่นอัลตราโซนิกเป็นเวลา 3 นาที

2) บรรจุสารละลายในกระบอกทนความดัน แล้วให้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟ ที่ 300 วัตต์ อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที จะได้ของแข็งสีดำเกิดขึ้น

3) นำตะกอนที่ได้มาละลายด้วยสารละลายเอทานอลในน้ำปราศจากไอออน (DI, deionization) ความเข้มข้นร้อยละ 80 โดยปริมาตร จำนวน 50 มิลลิลิตร คนให้ตะกอนเกิดการกระจายตัว ก่อนนำไปทำให้เกิดการกระจายตัวอีกครั้งด้วยคลื่นอัลตราโซนิกเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปแยกอนุภาคขนาดใหญ่ออกด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็ว 2500 รอบต่อวินาที เป็นเวลา 30 นาที

4) นำของเหลวที่ได้ เก็บไว้ในตู้เย็น ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้งาน

วิธีที่ 2 การสังเคราะห์ CDs ในการให้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟในระบบเปิด

เป็นการสังเคราะห์ CDs พัฒนาจากวิธีการที่รายงานโดย (Kasprzyk et al., 2018; Lei et al., 2016) มีรายละเอียดดังนี้

1) ละลายกรดซิตริก น้ำหนักประมาณ 0.77 กรัม และยูเรีย น้ำหนักประมาณ 2.6 กรัม ด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 20.0 มิลลิลิตร แล้วผสมสารให้เข้ากันภายใต้คลื่นอัลตราโซนิกเป็นเวลา 5 นาที

2) บรรจุสารละลายในบีกเกอร์ แล้วให้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟที่ 300 วัตต์ อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 นาที จะได้ของแข็งสีดำเกิดขึ้น

3) นำตะกอนที่ได้มาละลายด้วยสารละลายเอทานอลในน้ำปราศจากไอออน (DI, deionization) ความเข้มข้นร้อยละ 80 โดยปริมาตร จำนวน 50 มิลลิลิตร คนให้ตะกอนเกิดการกระจายตัว ก่อนนำไปทำให้เกิดการกระจายตัวอีกครั้งด้วยคลื่นอัลตราโซนิกเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปแยกอนุภาคขนาดใหญ่ออกด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็ว 2500 รอบต่อวินาที เป็นเวลา 30 นาที

4) นำของเหลวที่ได้ เก็บไว้ในตู้เย็น ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้งาน

3.3 การตรวจวัดคุณสมบัติเชิงแสงและลักษณะทางกายภาพของ CDs

ทำการตรวจวัดคุณสมบัติเชิงแสงของ CDs ที่สังเคราะห์ขึ้น ด้วยเทคนิคอัลตราไวโอเลต-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตเมตรี (Ultra violet-visible spectrophotometry) เพื่ออธิบายกลไกการดูดกลืนแสงและถูกกระตุ้นด้วยแสงของอนุภาคของ CDs และเทคนิคสเปกโตรฟลูออโรเมตรี (Spectrofluorometry) เพื่อหาความยาวคลื่นของพลังงานในการกระตุ้น และพลังงานในการวาวแสงของ CDs และทำการวิเคราะห์ขนาดอนุภาคของ CDs ที่สังเคราะห์ได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์

อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านที่มีกำลังแยกแยะสูง (High resolution transmission electron microscopy, HRTEM)

3.4 วิธีการตรวจวัดประสิทธิภาพของ CDs ในการตรวจวัดสารเมลามีน

3.4.1 การศึกษาผลของค่า pH ที่เหมาะสม

1) ปรับค่า pH ของ CDs ที่เจือจางความเข้มข้น 10 เท่าในช่วง pH 4 ถึง 8 แล้วนำมาผสมกับสารละลายเมลามีนมาตรฐานที่ความเข้มข้น 10 ppm

2) หลังการผสม CDs กับสารละลายเมลามีนมาตรฐานเป็นเวลา 10 นาที ทำการวัดสัญญาณการวาวแสงของ CDs ด้วยเทคนิคสเปคโตรฟลูออโรเมตรี เพื่อสังเกตความแตกต่างของสัญญาณระหว่าง CDs ที่ไม่ผสมสารละลายเมลามีนกับ CDs ที่ผสมสารละลายเมลามีน

3.4.2 การศึกษาผลของอัตราส่วน

เมื่อได้ความเหมาะสมของค่า pH แล้ว ทำการศึกษาค่าผลของอัตราส่วนในการปฏิกริยากันระหว่างเมลามีนกับ CDs ที่อัตราส่วนต่างๆ ได้แก่ 1:9, 2:8, 5:5, 7:3, 9:1 โดยให้ผลรวมปริมาตรมีค่าเท่ากับ 500 มิลลิลิตร ก่อนตรวจวัดการวาวแสงด้วยเทคนิคสเปคโตรฟลูออโรเมตรี เพื่อเปรียบเทียบผลของอัตราส่วนต่อการเปลี่ยนแปลงสัญญาณที่ความเข้มข้นสารละลายเมลามีนมาตรฐาน 10 ppm

3.4.3 การศึกษาผลของเวลา

หลังจากได้ความเหมาะสมทั้งค่า pH และอัตราส่วนแล้ว ทำการศึกษาค่าผลของเวลาในการปฏิกริยากันระหว่างเมลามีนกับ CDs ในช่วง 0 ถึง 45 นาที ก่อนตรวจวัดการวาวแสงด้วยเทคนิคสเปคโตรฟลูออโรเมตรี เพื่อเปรียบเทียบผลของเวลาต่อการเปลี่ยนแปลงสัญญาณที่ความเข้มข้นสารละลายเมลามีนมาตรฐาน 10 ppm

3.5 ศึกษาประสิทธิภาพ ความแม่นยำ และความจำเพาะของ CDs ในการตรวจวัดสารเมลามีน

3.5.1 ความเป็นเส้นตรง (Linearity range)

ความเป็นเส้นตรงคือความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างความเข้มข้นของสารละลายเมลามีนมาตรฐานที่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความเข้มการวาวแสงของ CDs โดยพิจารณาจากค่า r^2 ของสมการเส้นตรง

3.5.2 ศึกษาร้อยละการคืนกลับ (%recovery)

เพื่อเป็นการยืนยันผลการตรวจวัดเมลามีนที่ได้จากวิธีที่พัฒนาขึ้นว่ามีความน่าเชื่อถือหรือไม่ โดยแสดงข้อมูลทางด้านสถิติเป็นร้อยละการคืนกลับ (%recovery)

คำนวณได้จากสูตร

$$\% \text{ Recovery} = \frac{C_1 - C_2}{C_3} \times 100$$

C_1 คือ ความเข้มข้นของ sample blank ที่เติมสารละลายมาตรฐานเมลามีน

C_2 คือ ความเข้มข้นของ sample blank

C_3 คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเมลามีนที่เติมลงใน sample blank

3.5.3 ค่าต่ำสุดที่ตรวจพบได้ (LOD) และค่าต่ำสุดที่ตรวจวัดปริมาณได้ (LOQ)

ค่าต่ำสุดที่ตรวจพบได้ (LOD) และค่าต่ำสุดที่ตรวจวัดปริมาณได้ (LOQ) คำนวณได้โดยนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณโดยใช้สูตร

$$\text{LOD} = \bar{x} + 3\text{SD}$$

$$\text{LOQ} = \bar{x} + 10\text{SD}$$

$\bar{x}$ คือ ค่าเฉลี่ยของ sample blank

SD คือ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

3.5.4 ผลของสารรบกวนต่างๆ (Interference)

เนื่องด้วย งานวิจัยนี้สนใจศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณเมลามีนในตัวอย่างนมผง ซึ่งมีองค์ประกอบของสารหลายชนิดที่อาจส่งผลกระทบต่อการทำงานของเมลามีนได้ ดังนั้น จึงทำการศึกษาผลของสารที่เป็นองค์ประกอบในนมผงต่อสัญญาณการรบกวนของ CDs เช่น K^+ Na^+ Ca^{2+} Mg^{2+} Galactose fructose Glucose และ ศึกษาสารที่มีโครงสร้างคล้ายกับเมลามีนเช่น Cyanuric acid และ Allantoin โดยทำการหาค่าขีดจำกัดความอดทน (tolerance limit) ของวิธีที่พัฒนาขึ้น

3.6 การตรวจวัดสารเมลามีนในผลิตภัณฑ์นมผง

3.6.1 การเตรียมตัวอย่างนมผงสำหรับการตรวจวัดเมลามีน (Lei et al., 2016)

3.6.1.1 การเตรียมตัวอย่างนมผง

- 1) ชั่งตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมผง 0.05 กรัม ใส่ลงในหลอดไมโครเซนติฟิวก์ขนาด 10.0 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำ DI จำนวน 2 มิลลิลิตร เขย่าให้นมผงละลาย แล้วเติมสารละลายกรดไทรคลอโรอะซิติก (Trichloroacetic acid) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร
- 2) หลังจากนั้น ทำให้โปรตีนตกตะกอนด้วยคลื่นอัลตราโซนิกเป็นเวลา 5 นาที และนำสารละลายไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนติฟิวก์ที่ความเร็ว 25,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เพื่อแยกเก็บสารละลายส่วนใส

3) กรองสารละลายที่ได้ผ่าน syringe filter ขนาดช่องว่าง 0.22 ไมโครเมตร แล้วเติมน้ำ DI ให้ได้ 80 มิลลิลิตร แล้วนำไปปรับค่า pH ให้มีค่า pH เท่ากับ 6.0 ด้วยสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 1 โมลาร์ จากนั้นเติมน้ำให้ได้ปริมาตร 100.0 มิลลิลิตรพอดี ก็จะได้สารสกัดเมลามีนในตัวอย่างจริงจากนมผงสำหรับใช้งาน

3.6.1.2 การเตรียมตัวอย่างนมผงที่มีการเติมเมลามีนมาตรฐาน

1) ชั่งตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมผง 0.05 กรัม ใส่ลงในหลอดไมโครเซนติฟิวก์ขนาด 10.0 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารเมลามีนมาตรฐานความเข้มข้น 1000 ppm ลงไปปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร หรือ 2.0 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเติมน้ำ DI ปริมาตร 2 มิลลิลิตร แล้วเขย่าให้นมผงละลาย จากนั้นเติมสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติก (Trichloroacetic acid) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร

2) ทำให้โปรตีนตกตะกอนด้วยคลื่นอัลตราโซนิคเป็นเวลา 5 นาที และนำสารละลายไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนติฟิวก์ที่ความเร็ว 25,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เพื่อแยกตะกอนออกจากสารละลายส่วนใส

3) กรองสารละลายที่ได้ผ่าน syringe filter ขนาดช่องว่าง 0.22 ไมโครเมตร แล้วเติมน้ำ DI ให้ได้ 80 มิลลิลิตร แล้วนำไปปรับค่า pH ให้มีค่า pH เท่ากับ 6.0 ด้วยสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 1 โมลาร์ จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบปริมาตร 100.0 มิลลิลิตร ด้วยสารละลาย pH 6 ก็จะได้สารสกัดตัวอย่างนมผง ที่มีส่วนผสมของเมลามีนเข้มข้นเท่ากับ 5 หรือ 20 ppm เพื่อการศึกษาผลร้อยละการคืนกลับของวิธีที่พัฒนาขึ้นต่อไป

3.6.2 การตรวจวัดเมลามีนในผลิตภัณฑ์นมผงด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้น

1) นำสารสกัดตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมผงที่เติมและไม่เติมเมลามีนมาตรฐานจากการเตรียมในข้อ 3.6.1 มาทำปฏิกิริยากับ CDs ตามสภาวะที่เหมาะสม

2) จากนั้น นำไปตรวจวัดสัญญาณการวาวแสงของ CDs ด้วยเทคนิคสเปกโตรฟลูออโรเมตรีเพื่อหาความเข้มข้นของเมลามีนจากสัญญาณการวาวแสงของ CDs ที่เปลี่ยนแปลงไปตามสมการของ Stern-Volmer

3.7 การเปรียบเทียบความถูกต้องในการตรวจวัดสารเมลามีนในผลิตภัณฑ์นมผงด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นและวิธีมาตรฐาน (HPLC) (Venkatasami & Sowa Jr, 2010)

เพื่อประเมินค่าความน่าเชื่อถือของวิธีที่พัฒนาขึ้น จึงได้ทำการตรวจวัดเมลามีนในผลิตภัณฑ์นมผง ทั้งแบบที่ไม่มีการเติมและมีการเติมสารมาตรฐานเมลามีนลงไป ในตัวอย่างจริง ด้วยวิธีมาตรฐาน เพื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์กับวิธีการใช้ CDs ที่พัฒนาขึ้น ซึ่งวิธีมาตรฐาน

สำหรับการตรวจวัดปริมาณเมลามีนในผลิตภัณฑ์นมผง ได้แก่การใช้เทคนิค high performance liquid chromatography (HPLC) โดยมีขั้นตอนการตรวจวัดดังนี้

นำสารสกัดตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมผงที่เต็มและไม่เต็มเมลามีนมาตรฐานจากการเตรียมในข้อ 3.6.1 ไปตรวจวัดเพื่อหาปริมาณเมลามีนในผลิตภัณฑ์นมผงด้วยเทคนิค Reversed-phase HPLC โดยใช้คอลัมน์โครมาโทกราฟีชนิด C18 และใช้อะซิโตนไตรล์ / น้ำ DI ที่อัตราส่วน 60:40 เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ ที่อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที และทำการตรวจวัดสัญญาณของเมลามีนด้วย UV detector ที่ความยาวคลื่น 240 นาโนเมตร



บทที่ 4

ผลการศึกษา

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาและพัฒนาวิธีตรวจวัดสารเมลามีนอย่างง่ายในผลิตภัณฑ์นมผง ด้วยอนุภาค CDs ที่สังเคราะห์จากกรดซิตริกและยูเรียผ่านการให้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟ ผู้วิจัยได้แบ่งงานวิจัยเป็น 5 หัวข้อหลัก ดังต่อไปนี้

4.1 ลักษณะทางกายภาพและคุณสมบัติเชิงแสงของ CDs ต่อการตรวจวัดเมลามีน

4.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการตรวจวัดเมลามีนด้วย CDs

4.2.1 ผลของค่า pH ต่อประสิทธิภาพในการตรวจวัดเมลามีน

4.2.2 ผลของอัตราส่วนปริมาตร CDs : เมลามีน ต่อประสิทธิภาพในการตรวจวัดเมลามีน

4.2.3 ผลของเวลาในการเกิดปฏิกิริยาต่อประสิทธิภาพในการตรวจวัดเมลามีน

4.3 ศึกษาประสิทธิภาพ และ ความจำเพาะของ CDs ในการตรวจวัดเมลามีน

4.3.1 ความเป็นเส้นตรง (Linearity range)

4.3.2 ค่าต่ำสุดที่ตรวจพบได้ (Limit of Detection, LOD)

4.3.2 ค่าต่ำสุดที่ตรวจพบได้ (Limit of Detection, LOD)

4.3.4 ผลของสารรบกวนต่างๆ (Interference)

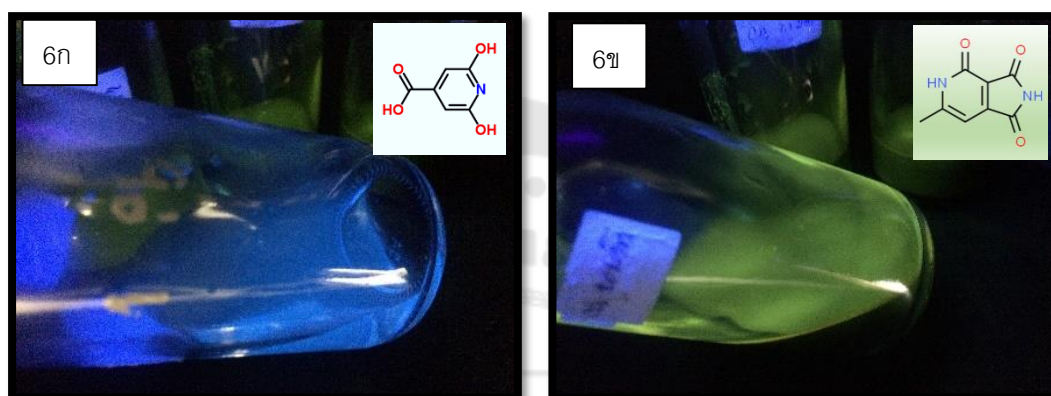
4.4 การตรวจวัดสารเมลามีนในผลิตภัณฑ์นมผงด้วย CDs

4.5 กลไกการระงับการรบกวนแสงของ CDs ด้วยสารเมลามีน

4.1 ลักษณะทางกายภาพและคุณสมบัติเชิงแสงของ CDs ต่อการตรวจวัดเมลามีน

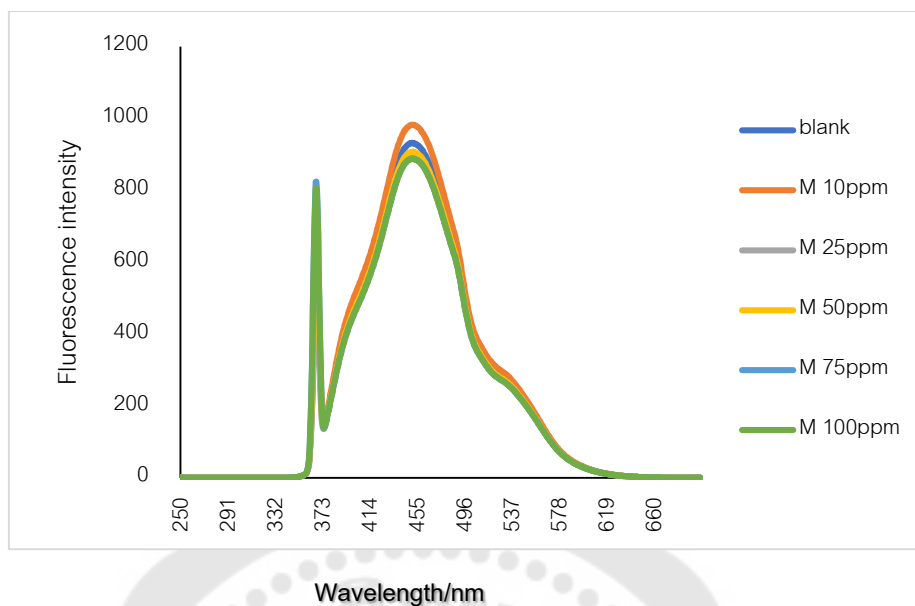
จากการศึกษาสภาวะในการสังเคราะห์ CDs จากกรดซิตริกและยูเรีย พบว่าการให้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟในระบบปิดและระบบเปิดให้ CDs ที่มีคุณสมบัติในการรบกวนแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ต่างกัน โดย CDs จากระบบปิดให้การรบกวนแสงสีฟ้า ดังภาพประกอบ 6ก มีค่าการรบกวนแสงฟลูออเรสเซนซ์สูงสุดที่ความยาวคลื่น 451 นาโนเมตร เมื่อถูกกระตุ้นด้วยพลังงานที่มีความยาวคลื่น 367.5 นาโนเมตร ในขณะที่ CDs ที่ได้จากการสังเคราะห์ในระบบเปิด ให้การรบกวนแสงสีเขียว ดังภาพประกอบ 6ข มีค่าการรบกวนแสงฟลูออเรสเซนซ์สูงสุดที่ความยาวคลื่น 538 นาโนเมตร เมื่อถูกกระตุ้นด้วยพลังงานที่มีความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kasprzyk และคณะ (2018) นอกจากนั้น Kasprzyk และคณะ ยังได้ศึกษาหมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิวของ CDs ที่

สังเคราะห์ได้จากทั้งสองระบบ พบว่าทั้งสองระบบประกอบด้วยหมู่ฟังก์ชันพื้นฐานที่เหมือนกัน ได้แก่หมู่ $-OH$ $-NH_2$ และ $-COOH$ และยังประกอบด้วยหมู่ฟังก์ชันสำคัญที่ส่งผลต่อการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ต่างกันคือ หมู่ฟังก์ชัน Citraczinic acid บนผิวของ CDs ที่สังเคราะห์ผ่านระบบปิด ส่วนระบบเปิดพบหมู่ฟังก์ชันเป็น 4-hydroxy-1H-pyrrolo[3,4-c]pyridine-1,3,6 (2H,5H)-trione (HPPT) (Kasprzyk et al., 2018)

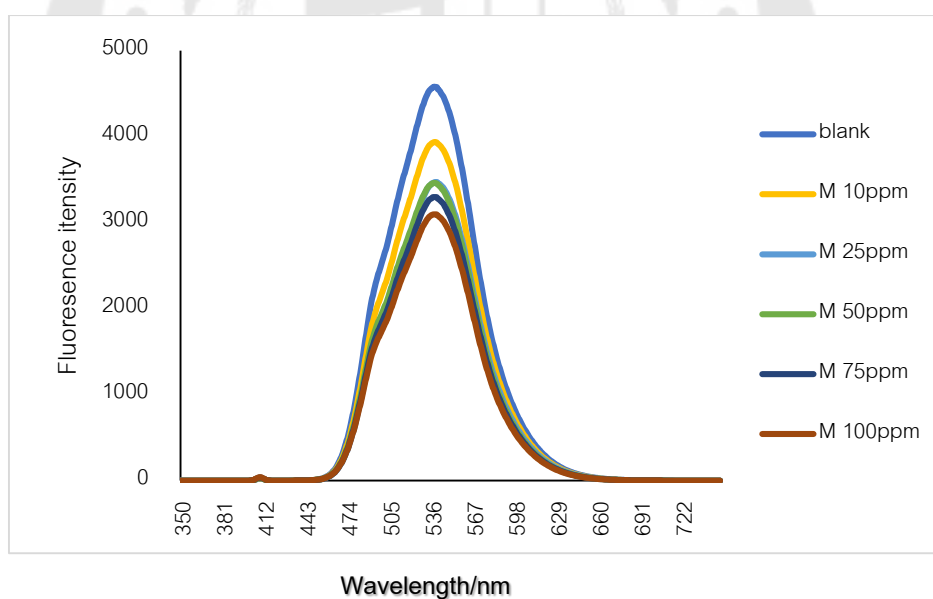


ภาพประกอบ 6 แสดงการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์ของ CDs จากกรดซิตริกและยูเรีย ที่สังเคราะห์ด้วยการให้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟใน (6ก) CDs ที่สังเคราะห์ผ่านระบบปิด มีหมู่ฟังก์ชันเป็น Citraczinic acid (ภาพเล็ก) และ (6ข) CDs ที่สังเคราะห์ผ่านระบบเปิด มีหมู่ฟังก์ชันเป็น HPPT (ภาพเล็ก)

จากนั้นเมื่อทดสอบการประยุกต์ใช้ CDs ในการตรวจวัดเมลามีนทั้งสองระบบนี้ พบว่า CDs จากที่สังเคราะห์ได้ผ่านระบบปิดไม่มีการเปลี่ยนแปลงค่าสัญญาณการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์ เมื่อทำการผสมกับสารละลายเมลามีนดังภาพประกอบที่ 7 ในขณะที่สัญญาณการวาวแสงของ CDs จากระบบเปิดมีค่าลดลงอย่างชัดเจนดังภาพประกอบที่ 8 ดังนั้น CDs ที่สังเคราะห์จากระบบเปิดจึงถูกเลือกใช้ในการศึกษาเพื่อหาสภาวะในการตรวจวัดเมลามีนที่เหมาะสมต่อไป



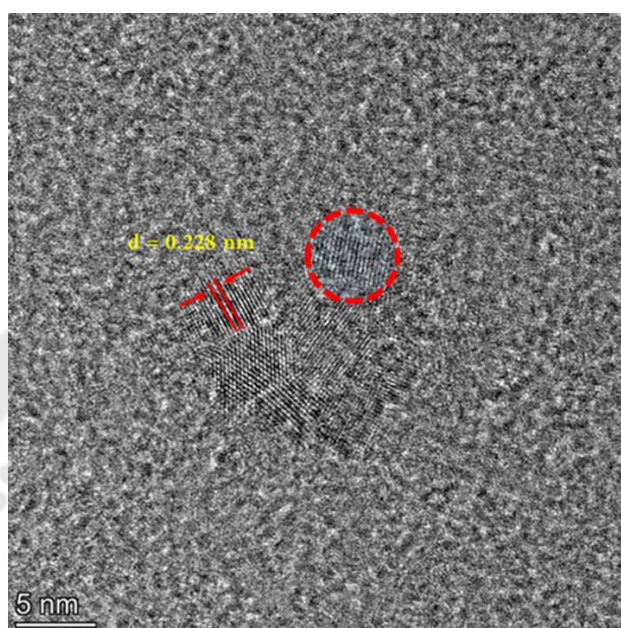
ภาพประกอบ 7 แสดงสเปกตรัมของ CDs ที่ผสมกับสารละลายเมลามีนมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ



ภาพประกอบ 8 แสดงสเปกตรัมของ CDs ที่ผสมกับสารละลายเมลามีนมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ

เมื่อทำการศึกษารูปร่างและขนาดอนุภาคของ CDs ที่สังเคราะห์ได้จากระบบเปิดด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านที่มีกำลังแยกแยะสูง (HRTEM) พบว่าอนุภาค CDs มี

ค่าเฉลี่ยของขนาดเท่ากับ 5.3 นาโนเมตร มีรูปเป็นทรงกลม ภาพประกอบ 9 ได้แสดงให้เห็นถึงลวดลายระนาบแลตทิซ(lattice fringes) ของ CDs ที่ได้และมีระยะห่างของระนาบแลตทิซเท่ากับ 0.228 นาโนเมตร ซึ่งสอดคล้องกับระนาบ (100) ของกราฟไฟท์ (Yijun Zhang et al., 2017)



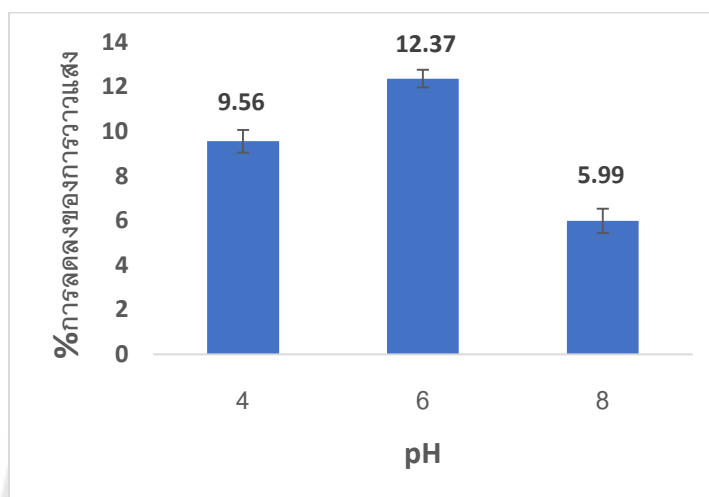
ภาพประกอบ 9 แสดงลวดลายระนาบแลตทิซ (lattice fringes) ของ CDs โดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน

4.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการตรวจวัดเมลามีนด้วย CDs

4.2.1 ผลของค่า pH ต่อประสิทธิภาพในการตรวจวัดเมลามีน

เนื่องจากค่า pH ส่งผลต่อโครงสร้างของหมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิวของ CDs และเมลามีน ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาค่า pH ของสารละลาย CDs และเมลามีน ที่ pH 4, 6 และ 8 ซึ่งพบว่าที่ pH 6 ให้ค่าร้อยละการลดลงของการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์สูงที่สุด คือร้อยละ 12.37 และที่ pH 4 และ 8 มีค่าร้อยละการลดลงของการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์เท่ากับ 9.56 และ 5.99 ตามลำดับ ดังแสดงในภาพประกอบ 10 ซึ่งแสดงให้เห็นถึงผลของค่า pH ต่อโครงสร้างของหมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิวของ CDs และเมลามีนเปลี่ยนแปลงไป โดยค่า pH มีผลต่อการแตกตัวของหมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิวของ CDs และในสภาวะที่เป็นกรดหรือเบสสูงจะส่งผลให้สารเมลามีนเกิดการไฮโดรไลส์และสูญเสียหมู่อะมิโนในโครงสร้างทางเคมีสุดท้ายกลายเป็น cyanuric acid (Bozzi et al., 2004) และ cyanuric acid ไม่สามารถเกิดแรงยึดเหนี่ยวกับ CDs ได้ ดังนั้น ค่า pH ของ

สารละลาย ที่ pH 6 จึงทำให้โครงสร้างบนพื้นผิวของ CDs และเมลามีนสามารถเกิดปฏิกิริยากันได้ดีที่สุด

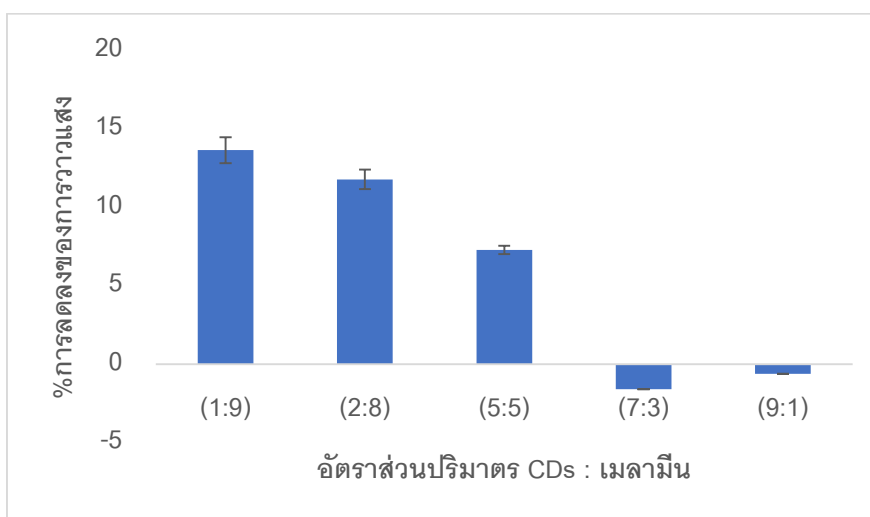


ภาพประกอบ 10 แสดงร้อยละการลดลงของการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์ของ CDs เมื่อเกิดปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานเมลามีนเข้มข้น 10 ppm ที่ค่า pH ของสารละลายต่างๆ

4.2.2 ผลของอัตราส่วนปริมาตร CDs : เมลามีน ต่อประสิทธิภาพในการตรวจวัดเมลามีน

เนื่องจากอัตราส่วนเชิงปริมาตรในการทำปฏิกิริยากันระหว่างตัวอย่างและสารตรวจวัดอาจส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์ ดังนั้นผู้วิจัยจึงทำการศึกษาปริมาตรของ CDs : เมลามีนที่อัตราส่วนต่างๆ ได้แก่ 1:9, 2:8, 5:5, 7:3, 9:1 โดยให้ผลรวมปริมาตรมีค่าเท่ากับ 500 ไมโครลิตร ซึ่งพบว่า ที่อัตราส่วนปริมาตร CDs : เมลามีนที่ 1:9 ให้ค่าร้อยละการลดลงของการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์สูงที่สุด คือร้อยละ 13.64 และที่ 2:8 และ 5:5 มีค่าร้อยละการลดลงของการวาวเท่ากับ 11.78 และ 7.28 ตามลำดับ ส่วนอัตราส่วนที่ 7:3 และ 9:1 ไม่พบการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในภาพประกอบ 11 อย่างไรก็ตาม ถึงแม้ว่าที่อัตราส่วนปริมาตร CDs : เมลามีน เท่ากับ 1:9 จะพบการลดลงของสัญญาณสูงที่สุด แต่มีข้อเสียคือความไม่เสถียรของสัญญาณ ซึ่งส่งผลต่อความแม่นยำและความเที่ยง ดังนั้น ในการเกิดปฏิกิริยา ถ้าใช้อัตราส่วนของเมลามีนที่น้อยเกินไปในการเกิดปฏิกิริยากับ CDs ทำให้มี CDs อิสระในสารละลายอยู่ในปริมาณที่มาก ซึ่งทำให้สัญญาณการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์ของ CDs ไม่มีความแตกต่างหรือสัญญาณการวาวแสงลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับสัญญาณของสารละลาย blank และส่งผลให้การตรวจวิเคราะห์เมลามีนในความเข้มข้นน้อยๆ ไม่มีความชัดเจน แต่ถ้าใช้อัตราส่วนของ CDs ที่น้อย

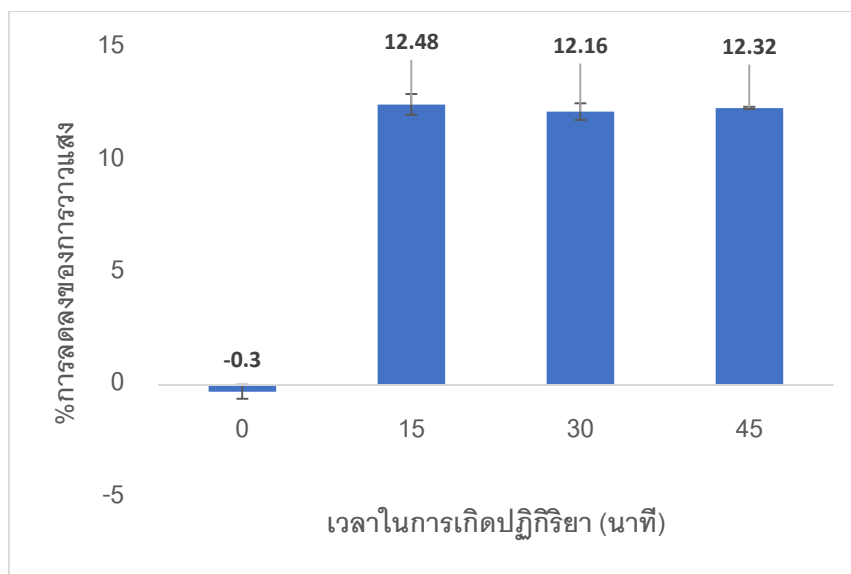
เกินไปในการเกิดปฏิกิริยากับเมลามีน จะทำให้สัญญาณการวาวแสงของ CDs ไม่เสถียร ส่งผลให้การตรวจวิเคราะห์เมลามีนไม่มีความแม่นยำ ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกใช้อัตราส่วนที่ 2:8 สำหรับการตรวจวัดเมลามีน เนื่องจากให้ค่าความแม่นยำ ความเที่ยง และความไวในการวิเคราะห์ที่ดี



ภาพประกอบ 11 แสดงร้อยละการลดลงของการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่อัตราส่วนปริมาตรต่างๆ ของ CDs กับสารละลายมาตรฐานเมลามีนความเข้มข้น 10 ppm ที่ pH 6

4.2.3 ผลของเวลาในการเกิดปฏิกิริยาต่อประสิทธิภาพในการตรวจวัดเมลามีน

เวลาในการทำปฏิกิริยาเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่มักจะส่งผลต่อประสิทธิภาพของการตรวจวัด ต่อการเกิดปฏิกิริยาระหว่าง CDs กับสารละลายเมลามีน ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาเวลาในการเกิดปฏิกิริยากันระหว่าง CDs กับสารละลายเมลามีน ที่ 0, 15, 30, และ 45 นาที ทั้งนี้ที่เวลานาน 0 นาที คือทำการตรวจวัดสารละลายทันทีที่ผสม CDs กับสารละลายเมลามีนเข้าด้วยกัน พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงสัญญาณอย่างชัดเจน ส่วนเวลาที่ 15, 30, และ 45 นาที ให้ค่าร้อยละการลดลงของการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์เท่ากับ 12.48, 12.16, และ 12.32 ตามลำดับ ดังแสดงในภาพประกอบ 12 ซึ่งผู้วิจัยเลือกเวลาที่เหมาะสมคือ เวลาที่ 15 นาที เนื่องจากการลดลงของสัญญาณเริ่มคงที่ และใช้เวลาสั้นสำหรับการตรวจวิเคราะห์

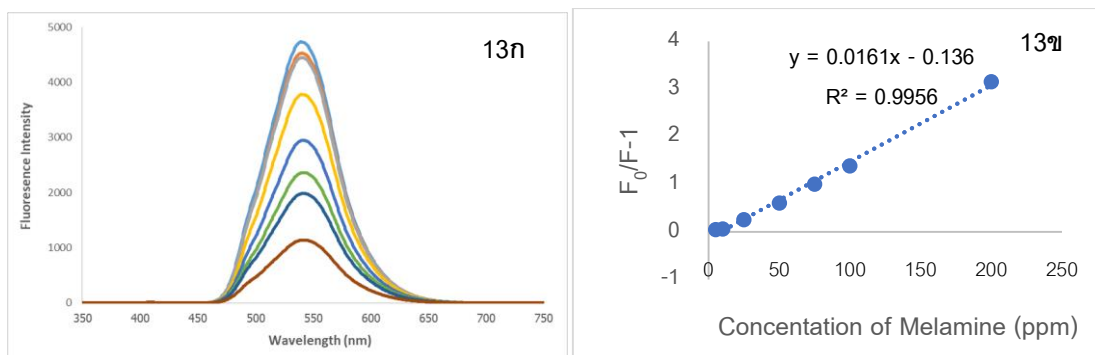


ภาพประกอบ 12 แสดงร้อยละการลดลงของการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ช่วงเวลาต่างๆในการเกิดปฏิกิริยาของ CDs กับสารละลายมาตรฐานเมลานินเข้มข้น 10 ppm ที่ค่า pH 6

4.3 ศึกษาประสิทธิภาพ และ ความจำเพาะของ CDs ในการตรวจวัดเมลานิน

4.3.1 ความเป็นเส้นตรง (Linearity range)

หลังจากศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดเมลานินด้วย CDs ที่พัฒนาขึ้น ผู้วิจัยได้ทำการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานเมลานินที่มีความเข้มข้นระหว่าง 1 ถึง 500 ppm เพื่อหาช่วงความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัดเมลานิน เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณเมลานินในนมผง ซึ่งพบว่า สารละลายเมลานินที่มีความเข้มข้นสูงขึ้น ส่งผลในการระงับการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์ของ CDs ได้มากขึ้น ดังแสดงภาพประกอบ 13ก และเมื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเมลานินกับสัญญาณการวาวแสงของ CDs ตามสมการของ Stern-Volmer จะได้กราฟเส้นตรงในช่วง 2.5 ถึง 200 ppm และมีค่า $R^2 = 0.9956$ ดังภาพประกอบ 13ข



ภาพประกอบ 13 แสดงสเปกตรัมการรับการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์ของ CDs (13ก) และ กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายเมลามีนมาตรฐานกับความเข้มของการวาวแสง ตามสมการของ Stern-Volmer (13ข) ที่ความเข้มข้น 2.5 ถึง 200 ppm

4.3.2 ค่าต่ำสุดที่ตรวจพบได้ (Limit of Detection, LOD)

การหาค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจพบได้ (LOD) เป็นอีกตัวแปรที่มีสำคัญในกระบวนการวิเคราะห์ ซึ่งสามารถบ่งบอกถึงประสิทธิภาพในการตรวจวิเคราะห์สารในวิธีที่พัฒนาขึ้นได้ จากผลการศึกษาหาประสิทธิภาพในวิธีการทดลอง โดยทำการวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลาย CDs ที่เป็น blank จำนวน 10 ครั้ง เพื่อนำไปคำนวณหาค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจพบได้ (LOD) โดยใช้สมการ $\bar{X} + 3sd$ ($\bar{X}$ คือ ค่าเฉลี่ยของ Simple blank, sd คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation)) และพบว่า ค่าต่ำสุดที่ CDs ตรวจวัดได้เท่ากับ 1.44 ppm

4.3.3 ค่าต่ำสุดที่ตรวจวัดปริมาณได้ (Limit of quantitation, LOQ)

จากสภาวะที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาระหว่าง CDs กับเมลามีน แล้วนำมาสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของเมลามีนกับสัญญาณการวาวแสงของ CDs และ ทำการคำนวณหาค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดปริมาณได้อย่างถูกต้อง แม่นยำโดยคำนวณจากสมการ $\bar{X} + 10sd$ ($\bar{X}$ คือ ค่าเฉลี่ยของ Simple blank, sd คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation)) และพบว่า ค่าต่ำสุดที่ CDs ตรวจวัดปริมาณได้เท่ากับ 2.48 ppm ซึ่งสอดคล้องกับค่าความเข้มข้นของเมลามีนที่ได้จากการทดลองต่ำสุดที่ 2.5 ppm

4.3.4 ผลของสารรบกวนต่างๆ (Interference)

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการตรวจวิเคราะห์สารโมเลกุล เช่น galactose lactose fructose และ ไอออน เช่น Na^+ K^+ Mg^{2+} และ Ca^{2+} เนื่องจากเป็นสารที่สามารถพบได้ในนมผง ซึ่งสารเหล่านี้อาจจะส่งผลกระทบต่อ การตรวจวิเคราะห์เมลามีนได้ และนอกจากนี้ยังได้ศึกษา

ความจำเพาะของคาร์บอนดอทต่อการตรวจวัดเมลามีนโดยการทดสอบกับสารที่มีโครงสร้างคล้ายกับเมลามีน เช่น cyanuric acid และ allantoin โดยพบว่า สารที่ทำการศึกษาทุกชนิดที่กล่าวมานั้น ไม่มีการรบกวนสำหรับการตรวจวัดเมลามีนอย่างมีนัยสำคัญ (ระดับการวาวแสงน้อยกว่า 4%) ที่ความเข้มข้นของสารแต่ละชนิดเท่ากับ 500 ppm

4.4 การตรวจวัดสารเมลามีนในผลิตภัณฑ์นมผงด้วย CDs

หลังจากที่ได้ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดสารเมลามีนด้วย CDs แล้ว ได้แก่ ที่ค่า pH ของสารละลายเท่ากับ 6, อัตราส่วนปริมาณของ CDs : เมลามีนที่ 2:8 และ เวลาในการเกิดปฏิกิริยาที่ 15 นาทีแล้ว ดังนั้น จึงได้นำสภาวะนี้ ไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวิเคราะห์เมลามีนในตัวอย่างจริงของนมผงที่จำหน่ายในท้องตลาด และทำการศึกษาค่าร้อยละการคืนกลับ (% recovery) โดยการเติมสารเมลามีนมาตรฐานที่ทราบปริมาณแน่นอน จากสารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 1000ppm มาในปริมาตร 0.5 ml และ 2 ml เพื่อนำไปสกัดแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 ml ตามวิธีที่ศึกษาในบทที่ 3 หัวข้อ 3.6.1 แล้วความเข้มข้นในปริมาตรสุดท้ายก็จะได้ความเข้มข้นเมลามีนมาตรฐานเท่ากับ 5 และ 20 ppm หลังจากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ไปผสมกับ CDs เพื่อทำการตรวจวัดการวาวแสงด้วยเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ แล้วนำค่าการวาวแสงที่ได้มาแทนใส่สมการเส้นตรงที่ได้จากสมการของ Stern-Volmer เพื่อคำนวณหาความเข้มข้น โดยทำการเปรียบเทียบผลการตรวจวัดที่ได้กับวิธีมาตรฐาน ได้แก่ เทคนิค RP-HPLC ทั้งนี้ ผลการตรวจวัดแสดงดังตารางที่ 1

ตาราง 1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณเมลามีนในตัวอย่างนมผงด้วย CDs และ เครื่อง HPLC

ตัวอย่างนมผง	ที่เติม	ความเข้มข้นของ เมลามีน (ppm)		Recovery (%)
		วิธีมาตรฐาน	ที่ตรวจพบ	
		(HPLC)	ด้วย CDs	
ชนิดที่ 1	0	0	0	0
	5.0	5.52 ± 0.07	5.54 ± 0.95	110.0 %
	20.0	22.42 ± 0.29	23.26 ± 1.86	107.3 %
ชนิดที่ 2	0	0	0	0
	5.0	5.42 ± 0.02	4.82 ± 3.01	96.4 %

ตาราง 1 (ต่อ)

ตัวอย่างนมผง	ที่เดิม	ความเข้มข้นของ		Recovery (%)
		เมลามีน (ppm)		
		วิธีมาตรฐาน (HPLC)	ที่ตรวจพบ ด้วย CDs	
ชนิดที่ 2	20.0	22.18 ± 0.16	21.95 ± 1.02	109.75 %
	0	0	0	0
ชนิดที่ 3	5.0	4.91 ± 0.02	4.59 ± 0.63	91.8 %
	20.0	22.20 ± 0.17	24.37 ± 2.30	106.7 %

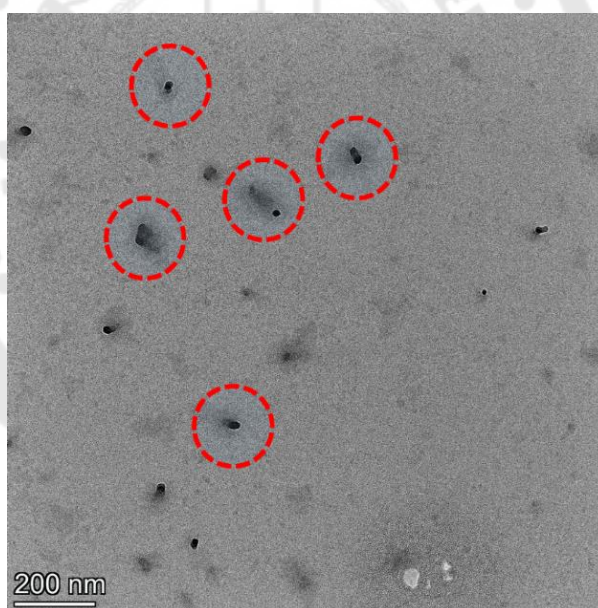
จากผลการทดลองพบว่า การตรวจวิเคราะห์ปริมาณเมลามีนในตัวอย่างจริงด้วยการใช้ CDs ที่พัฒนาขึ้น ให้ผลการทดลองที่แม่นยำและมีความน่าเชื่อถือ โดยให้ค่าร้อยละการคืนกลับที่ตรวจพบด้วย CDs อยู่ระหว่าง 96.4 ถึง 110.0 % และค่า RSD น้อยกว่า 5% ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับค่าการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค RP-HPLC และจากการเปรียบเทียบข้อมูลทางสถิติด้วย Paired Sample t-Test ที่ค่าความเชื่อมั่น 95 % พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

4.5 กลไกการระงับการรวมแสงของ CDs ด้วยสารเมลามีน

CDs ที่ได้จากการสังเคราะห์จากกรดซิตริกและยูเรียในระบบเปิด มีองค์ประกอบของหมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิวเป็นหมู่ 4-hydroxy-1H-pyrrolo[3,4-c]pyridine-1,3,6 (2H,5H)-trione (HPPT) (Kasprzyk et al., 2018) ซึ่งสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับหมู่อะมิโนในโครงสร้างเมลามีนได้ในสถานะที่เหมาะสม ซึ่งทำให้ CDs ที่แขวนลอยอยู่ในสารละลายเกิดการรวมตัวกันเป็นอนุภาคที่มีขนาดใหญ่ขึ้นแล้วเกิดการตกตะกอนที่สามารถสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่าได้ ซึ่งความขุ่นของสารละลาย CDs จะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของเมลามีนที่เพิ่มขึ้น ดังภาพประกอบ 14 และเมื่อทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของ CDs ในสถานะที่มีเมลามีนปนเปื้อนอยู่ด้วยเทคนิค HR-TEM พบว่าอนุภาคของ CDs เกิดการรวมตัวกันและมีตะกอนอย่างชัดเจน ดังภาพประกอบ 15



ภาพประกอบ 14 การตกตะกอนตามความเข้มข้นของสารเมลามีนที่เพิ่มขึ้น (ความเข้มข้นของเมลามีนที่เติม 5 ถึง 200ppm ตามลำดับ)

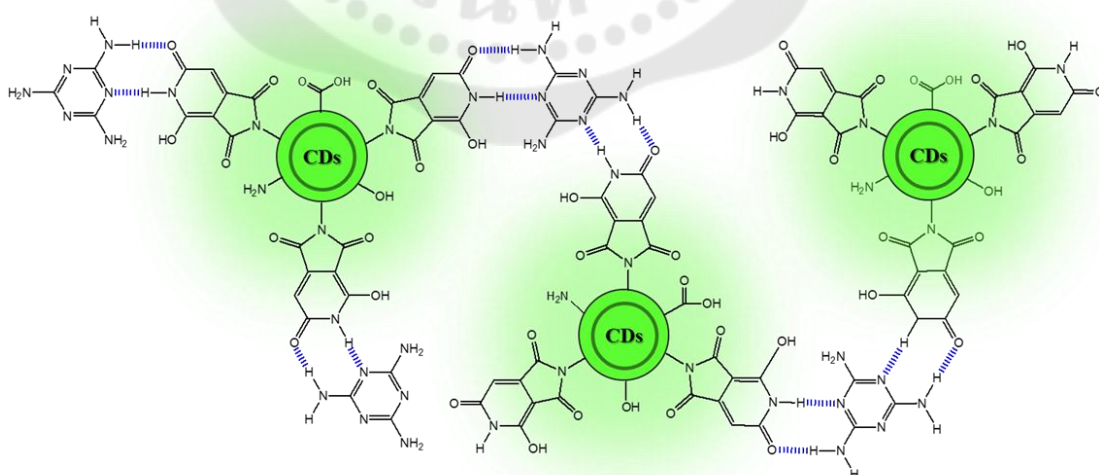


ภาพประกอบ 15 แสดงการรวมตัวกันของ CDs กับเมลามีนโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน

โดยพันธะไฮโดรเจนระหว่าง HPPT บนผิวของ CDs กับเมลามีนเกิดขึ้นที่ตำแหน่งของหมู่ (N-H) จากเมลามีนกับหมู่ $\text{O}=\text{C}<$ จาก HPPT บนพื้นผิวของ CDs และ หมู่ $(-\text{N}-\text{H})$ จาก HPPT จับกับ N จากเมลามีน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Sarkar และคณะ ที่ศึกษาการเตรียมไฮโดร

เจลจากสารละลายผสมระหว่างเมลามีนกับกรดซิทราซินิกดังภาพประกอบ 16 (Sarkar et al., 2015)

จากผลการศึกษาคุณสมบัติการดูดกลืนแสง การวาวแสง ตลอดจนโครงสร้างของ CDs และเมลามีน ผู้วิจัยคาดว่ากลไกการเกิดการระงับการวาวแสงระหว่าง CDs กับเมลามีนนั้น เป็นแบบการถ่ายโอนอิเล็กตรอน (Photo-induced electron transfer) ภายในโครงสร้างของการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง CDs กับเมลามีน โดย CDs ในสภาวะกระตุ้น (Photo-induced electron) ทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอนแก่เมลามีน ซึ่งเกิดจากอิเล็กตรอนในสภาวะพื้น (ground state) ของ CDs ได้รับพลังงานจากแสงความยาวคลื่นที่เหมาะสม ทำให้อิเล็กตรอนเกิดการดูดกลืนพลังงานแสงนั้นแล้วมีพลังงานที่สูงขึ้น ส่งผลให้อิเล็กตรอนสามารถขึ้นไปอยู่ในออร์บิทัล (orbital) ที่มีระดับชั้นพลังงานที่สูงขึ้น (สภาวะกระตุ้น) และมีการถ่ายโอนอิเล็กตรอนในสภาวะกระตุ้นจากหมู่ $O=C<$ ของ HPPT บนพื้นผิวของ CDs ให้กับหมู่ (N-H) จากเมลามีนในรูปแบบ cation radical และ anion radical และทำให้ CDs ขาดอิเล็กตรอน ดังนั้นตัวเมลามีนก็จะให้อิเล็กตรอนคืนกลับมาผ่าน หมู่ (N) จากเมลามีนกับหมู่ $(-N-H)$ จาก HPPT บนพื้นผิวของ CDs โดยไม่มีการปล่อยอนุภาคของแสงออกมา ในกระบวนการเกิดการถ่ายโอนอิเล็กตรอนนี้เกิดขึ้นผ่านช่องว่างของระดับพลังงานระหว่าง LUMO ของเมลามีนกับ HOMO ของ CDs (CDs เป็นตัวให้อิเล็กตรอน) จากนั้นมีการให้อิเล็กตรอนที่มีระดับพลังงานลดลงกลับคืนสู่ CDs ผ่าน HOMO ของเมลามีน กับ LUMO ของตัว CDs (CDs เป็นตัวรับอิเล็กตรอน)



ภาพประกอบ 16 การระงับการวาวแสงและเกิดการรวมตัวกันของ CDs ด้วยสารเมลามีน

บทที่ 5

สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้ ได้พัฒนาวิธีอย่างง่ายและราคาประหยัดสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณเมลามีนในตัวอย่างนมผงด้วยการใช้ CDs เป็นตัวตรวจวัด ซึ่งพบว่าได้ผลการศึกษาดังนี้

CDs สำหรับการตรวจวัดเมลามีนในงานวิจัยนี้สามารถสังเคราะห์ได้สารละลายผสมระหว่างจากกรดซิตริกและยูเรียโดยผ่านการให้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟในระบบเปิด โดยใช้เวลาในการสังเคราะห์เพียง 7 นาที ทั้งนี้กลไกในการตรวจวัดเมลามีนอาศัยคุณสมบัติในการระงับการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์ของ CDs ด้วยเมลามีน นั่นคือเมื่อความเข้มข้นของเมลามีนเพิ่มมากขึ้น จะส่งผลให้ค่าการวาวแสงของ CDs ลดลง ผ่านการเกิดแรงยึดเหนี่ยวของพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่ฟังก์ชันบนผิวของ CDs กับโมเลกุลของเมลามีน โดยใช้เวลาในการเกิดปฏิกิริยาเพียง 15 นาที ก่อนทำการตรวจวัดสัญญาณการวาวแสงด้วยเทคนิคสเปคโตรฟลูออโรเมตรี ซึ่งวิธีการตรวจวัดที่พัฒนาขึ้นมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ตรวจวัดได้เท่ากับ 1.44 ppm

เบื้องต้นผู้วิจัยได้ทำการศึกษาลักษณะทางกายภาพและคุณสมบัติเชิงแสงของ CDs ต่อการตรวจวัดเมลามีน ซึ่งพบว่า CDs สามารถละลายในน้ำได้ดี ทั้งนี้สารละลายที่ได้เป็นสีเหลืองเข้มภายใต้แสงธรรมชาติ และเมื่อนำไปวัดการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์พบว่า สารละลาย CDs เกิดการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์เป็นแสงสีเขียว โดยมีค่าการวาวแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 538 นาโนเมตร เมื่อถูกกระตุ้นด้วยพลังงานที่มีความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร จากนั้นผู้วิจัยได้ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการระงับการวาวแสง CDs ด้วยเมลามีน ได้แก่ ผลของค่า pH ผลของอัตราส่วนปริมาตร CDs : เมลามีน และผลของเวลาในการเกิดปฏิกิริยาต่อประสิทธิภาพในการตรวจวัดเมลามีน ซึ่งพบว่าที่ pH 6 ให้ค่าร้อยละการลดลงของการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์สูงที่สุด ดังนั้นที่ pH 6 จึงเหมาะสมต่อการศึกษابัจจัยต่างๆต่อไปสำหรับการวิเคราะห์เมลามีน ทั้งนี้ โดยค่า pH มีผลต่อการแตกตัวของหมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิวของ CDs และในสภาวะที่เป็นกรดหรือเบสสูง จะส่งผลให้สารเมลามีนเกิดการไฮโดรไลส์และสูญเสียหมู่อะมิโนในโครงสร้างทางเคมีและไม่สามารถเกิดแรงยึดเหนี่ยวกับ CDs ได้ สำหรับปัจจัยของอัตราส่วนในการเกิดปฏิกิริยาระหว่าง CDs และเมลามีนพบว่า อัตราส่วนที่เหมาะสมคือ 2:8 (ปริมาตรรวม 500 ไมโครลิตร) เนื่องจากให้ค่าร้อยละการลดลงของการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่สูง และยังให้ค่าความแม่นยำ ความเที่ยง และความไวในการวิเคราะห์ที่ดีกว่าอัตราส่วนอื่นๆ เนื่องจาก ถ้าใช้อัตราส่วนของเมลามีนที่น้อยเกินไปในการเกิดปฏิกิริยากับ CDs ทำให้มี CDs อิสระในสารละลายอยู่ในปริมาณที่มาก ซึ่งทำให้สัญญาณการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์ของ CDs ไม่มีความแตกต่างหรือสัญญาณการวาวแสงลดลง

อย่างไม่มีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับสัญญาณของสารละลาย blank และส่งผลให้การตรวจวิเคราะห์เมลามีนที่ความเข้มข้นน้อยๆ ไม่มีความชัดเจน แต่ถ้าใช้อัตราส่วนของ CDs ที่น้อยเกินไปในการทำปฏิกิริยากับเมลามีน จะทำให้สัญญาณการวาวแสงของ CDs ไม่เสถียร ซึ่งจะส่งผลให้การตรวจวิเคราะห์เมลามีนไม่มีความแม่นยำ นอกจากนี้ผลของเวลาในการเกิดปฏิกิริยาต่อประสิทธิภาพในการตรวจวัดเมลามีนพบว่า การตรวจวัดสารละลายทันทีที่ผสม CDs กับสารละลายเมลามีนเข้าด้วยกันจะไม่พบการเปลี่ยนแปลงสัญญาณที่ชัดเจน ส่วนเวลาที่ 15, 30, และ 45 นาที ให้ค่าร้อยละการลดลงของการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยจึงเลือกใช้ เวลาที่ 15 นาที เป็นเวลาที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาระหว่าง CDs กับเมลามีน เนื่องจากการลดลงของสัญญาณเริ่มคงที่ และใช้เวลาสั้นสำหรับการตรวจวิเคราะห์

หลังจากศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดเมลามีนด้วย CDs ที่พัฒนาขึ้นแล้ว ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพในการตรวจวัดเมลามีนด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้น พบว่าเมื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเมลามีนกับสัญญาณการวาวแสงของ CDs ตามสมการของ Stern-Volmer จะได้กราฟเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 2.5 ถึง 200 ppm ที่มีสมการเส้นตรงคือ $y = 0.0161x - 0.136$ และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) เท่ากับ 0.9956 ค่าความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ (%RSD, $n=5$) น้อยกว่า 5% ให้ค่าต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ (LOD, $\bar{X} + 3sd$) เท่ากับ 1.44 ppm และค่าต่ำสุดที่ตรวจวัดปริมาณได้ (LOQ, $\bar{X} + 10sd$) เท่ากับ 2.48 ppm ซึ่งสอดคล้องกับค่าต่ำสุดช่วงความเป็นเส้นตรง

ในการศึกษากลไกในการเกิดปฏิกิริยาระหว่าง CDs และเมลามีน ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาคุณสมบัติการดูดกลืนแสง การวาวแสง โครงสร้าง ตลอดจนความสามารถในการเกิดอันตรกิริยาระหว่างกันของ CDs และเมลามีน โดยพบว่ากลไกการเกิดการระงับการวาวแสงระหว่าง CDs กับเมลามีนนั้น เป็นแบบการถ่ายโอนอิเล็กตรอน (Photo-induced electron transfer) ผ่านพันธะไฮโดรเจนที่เกิดจากหมู่ (N-H) ของเมลามีนกับหมู่ $O=C<$ ของ HPPT บนพื้นผิวของ CDs และ หมู่ $(-N-H)$ ของ HPPT กับ N ของเมลามีน โดยมี CDs เป็นตัวให้อิเล็กตรอนและเมลามีนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนในสภาวะกระตุ้น และการถ่ายโอนอิเล็กตรอนนี้เกิดขึ้นผ่านช่องว่างของระดับพลังงานระหว่าง LUMO ของเมลามีนกับ HOMO ของ CDs (CDs เป็นตัวให้อิเล็กตรอน) และผ่านช่องว่างพลังงานระหว่าง LUMO ของ CDs กับ HOMO ของเมลามีน (CDs เป็นตัวรับอิเล็กตรอน) โดยไม่มีการปล่อยอนุภาคของแสงออกมา

ในงานวิจัยในครั้งนี้ได้นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมผง 3 ชนิดจากท้องตลาดมาวิเคราะห์หาปริมาณเมลามีนด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้น เปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานพบว่าทั้งสองวิธีให้ผลการ

ตรวจวัดที่ใกล้เคียงกัน ($p > 0.05$) นอกจากนี้การศึกษายังได้ร้อยละคืนกลับของสารมาตรฐานเมลามีนในสถานะของการสกัดเมลามีนจากนมตัวอย่างพบว่า ที่ความเข้มข้นของสารมาตรฐานเมลามีน 5 ppm มีค่าร้อยละการคืนกลับอยู่ระหว่าง 91.8 ถึง 110.0 % และที่ความเข้มข้นของสารมาตรฐานเมลามีน 20 ppm มีค่าร้อยละการคืนกลับที่ช่วง 106.7 ถึง 109.75 % ซึ่งเป็นช่วงที่ยอมรับได้ แสดงว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นสามารถวิเคราะห์ปริมาณเมลามีนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมผงได้อย่างมีประสิทธิภาพโดยไม่ได้รับผลกระทบจากสารองค์ประกอบในนมผงตัวอย่างและกรดที่ใช้ในการสกัดเมลามีน

จากผลการทดลองที่กล่าวมาข้างต้น แสดงให้เห็นว่าวิธีการวิเคราะห์ปริมาณเมลามีนด้วย CDs โดยอาศัยคุณสมบัติเชิงแสงของ CDs ในการตรวจวัด สามารถประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณเมลามีนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมผงได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยเป็นวิธีที่ง่าย สะดวก ปลอดภัย ได้ผลการวิเคราะห์ที่รวดเร็ว นอกจากนี้ การสังเคราะห์ CDs ยังสามารถทำได้ง่ายและราคาประหยัด ด้วยการให้ความร้อนผ่านคลื่นไมโครเวฟ ใช้สารเคมีที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม และสามารถวิเคราะห์ปริมาณเมลามีนได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ

ข้อเสนอแนะ

ในการทำการวิจัยในครั้งต่อไปควรทำการศึกษาวิธีการปรับพื้นผิวบน CDs เพื่อให้มีความไวในการตรวจวิเคราะห์เพิ่มขึ้น เช่น เปลี่ยนสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ เปลี่ยนวิธีในการสังเคราะห์ และควรศึกษาหาข้อพิพาทอันก่อให้เกิดปฏิกิริยาระหว่าง CDs กับเมลามีน

บรรณานุกรม

- An, L. , & Sun, W. (2017) . A brief review of neurotoxicity induced by melamine. *Neurotoxicity research*, 32(2), 301-309.
- Andersen, W. C., Turnipseed, S. B., Karbiwnyk, C. M., Clark, S. B., Madson, M. R., Gieseke, C. M., . . . Reimschuessel, R. (2008). Determination and confirmation of melamine residues in catfish, trout, tilapia, salmon, and shrimp by liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(12), 4340-4347.
- Baker, S. N., & Baker, G. A. (2010). Luminescent carbon nanodots: emergent nanolights. *Angewandte Chemie International Edition*, 49(38), 6726-6744.
- Baynes, R. E., Barlow, B., Mason, S. E., & Riviere, J. E. (2010). Disposition of melamine residues in blood and milk from dairy goats exposed to an oral bolus of melamine. *Food and Chemical Toxicology*, 48(8-9), 2542-2546.
- Bera, R. K., & Raj, C. R. (2011). Naked eye sensing of melamine using rationally tailored gold nanoparticles: hydrogen-bonding and charge-transfer recognition. *Analyst*, 136(8), 1644-1648.
- Bizzari, S. , & Yokose, K. (2008) . Melamine In: Chemical economic handbook. *SRI Consulting Inc, Menlo Park, Ca.*
- Bozzi, A., Dhananjeyan, M., Guasaquillo, I., Parra, S., Pulgarin, C., Weins, C., & Kiwi, J. (2004). Evolution of toxicity during melamine photocatalysis with TiO₂ suspensions. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 162(1), 179-185.
- Bretterbauer, K., & Schwarzingner, C. (2012). Melamine derivatives-a review on synthesis and application. *Current Organic Synthesis*, 9(3), 342-356.
- Brown, C. A., Jeong, K.-S., Poppenga, R. H., Puschner, B., Miller, D. M., Ellis, A. E., . . . Brown, S. A. (2007) . Outbreaks of renal failure associated with melamine and cyanuric acid in dogs and cats in 2004 and 2007. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 19(5), 525-531.
- Chandra, S., Das, P., Bag, S., Laha, D., & Pramanik, P. (2011). Synthesis, functionalization

- and bioimaging applications of highly fluorescent carbon nanoparticles. *Nanoscale*, 3(4), 1533-1540.
- Chang, K., Wang, S., Zhang, H., Guo, Q., Hu, X., Lin, Z., . . . Hu, J. (2017). Colorimetric detection of melamine in milk by using gold nanoparticles-based LSPR via optical fibers. *PloS one*, 12(5), e0177131.
- Cook, H. A., Klampfl, C. W., & Buchberger, W. (2005). Analysis of melamine resins by capillary zone electrophoresis with electrospray ionization- mass spectrometric detection. *Electrophoresis*, 26(7-8), 1576-1583.
- Dai, H., Shi, Y., Wang, Y., Sun, Y., Hu, J., Ni, P., & Li, Z. (2014). A carbon dot based biosensor for melamine detection by fluorescence resonance energy transfer. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 202, 201-208.
- Das, P., Ganguly, S., Mondal, S., Bose, M., Das, A. K., Banerjee, S., & Das, N. C. (2018). Heteroatom doped photoluminescent carbon dots for sensitive detection of acetone in human fluids. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 266, 583-593.
- Demchenko, A. P., & Dekaliuk, M. O. (2013). Novel fluorescent carbonic nanomaterials for sensing and imaging. *Methods and applications in fluorescence*, 1(4), 042001.
- Dong, Y., Wang, R., Li, H., Shao, J., Chi, Y., Lin, X., & Chen, G. (2012). Polyamine-functionalized carbon quantum dots for chemical sensing. *Carbon*, 50(8), 2810-2815.
- Gonçalves, H., & da Silva, J. C. E. (2010). Fluorescent carbon dots capped with PEG 200 and mercaptosuccinic acid. *Journal of fluorescence*, 20(5), 1023-1028.
- Guo, C. X., Zhao, D., Zhao, Q., Wang, P., & Lu, X. (2014). Na⁺-functionalized carbon quantum dots: a new draw solute in forward osmosis for seawater desalination. *Chemical communications*, 50(55), 7318-7321.
- Guo, Y., Wang, Z., Shao, H., & Jiang, X. (2013). Hydrothermal synthesis of highly fluorescent carbon nanoparticles from sodium citrate and their use for the detection of mercury ions. *Carbon*, 52, 583-589.
- Han, C., & Li, H. (2010). Visual detection of melamine in infant formula at 0.1 ppm level based on silver nanoparticles. *Analyst*, 135(3), 583-588.

- Hau, A. K.-c., Kwan, T. H., & Li, P. K.-t. (2009). Melamine toxicity and the kidney. *Journal of the American Society of Nephrology*, 20(2), 245-250.
- Hou, J. , Li, H. , Wang, L. , Zhang, P. , Zhou, T. , Ding, H. , & Ding, L. (2016) . Rapid microwave-assisted synthesis of molecularly imprinted polymers on carbon quantum dots for fluorescent sensing of tetracycline in milk. *Talanta.*, 146, 34-40.
- Hussain, S. A. (2009). An introduction to fluorescence resonance energy transfer (FRET). *arXiv preprint arXiv:0908.1815*.
- Kasprzyk, W., Świergosz, T., Bednarz, S., Walas, K., Bashmakova, N. V., & Bogdał, D. (2018). Luminescence phenomena of carbon dots derived from citric acid and urea—a molecular insight. *Nanoscale.*, 10(29), 13889-13894.
- Khakbaz, F., & Mahani, M. (2017). Micro-RNA detection based on fluorescence resonance energy transfer of DNA-carbon quantum dots probes. *Analytical biochemistry*, 523, 32-38.
- Kumar, N., Seth, R., & Kumar, H. (2014). Colorimetric detection of melamine in milk by citrate-stabilized gold nanoparticles. *Anal. Biochem.*, 456, 43-49.
- Lachenmeier, D. W., Humpfer, E., Fang, F., Schütz, B., Dvortsak, P., Sproll, C., & Spraul, M. (2009) . NMR-spectroscopy for nontargeted screening and simultaneous quantification of health-relevant compounds in foods: the example of melamine. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(16), 7194-7199.
- Lakowicz, J. R. (2013) . *Principles of fluorescence spectroscopy*: Springer science & business media.
- Lei, C., Zhao, X., Jiao, S., He, L., Li, Y., Zhu, S., & You, J. (2016). A turn-on fluorescent sensor for the detection of melamine based on the anti-quenching ability of Hg²⁺ to carbon nanodots. *Anal. Methods.*, 8(22), 4438-4444.
- Li, L., Li, B., Cheng, D., & Mao, L. (2010). Visual detection of melamine in raw milk using gold nanoparticles as colorimetric probe. *Food Chemistry*, 122(3), 895-900.
- Li, N., Wei, F., Lam, R., Zou, J., Cheng, S., Lu, S., & Ho, D. (2010). *Gold nanoparticle-mediated detection of melamine based on a dual colorimetric and turbidometric readouts*. Paper presented at the 10th IEEE International Conference on

Nanotechnology.

- Liang, Q., Ma, W., Shi, Y., Li, Z., & Yang, X. (2013). Easy synthesis of highly fluorescent carbon quantum dots from gelatin and their luminescent properties and applications. *Carbon*, 60, 421-428.
- Liang, R., Zhang, R., & Qin, W. (2009). Potentiometric sensor based on molecularly imprinted polymer for determination of melamine in milk. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 141(2), 544-550.
- Lim, S. Y., Shen, W., & Gao, Z. (2015). Carbon quantum dots and their applications. *Chemical Society Reviews*, 44(1), 362-381.
- Lin, Z., Xue, W., Chen, H., & Lin, J.-M. (2012). Classical oxidant induced chemiluminescence of fluorescent carbon dots. *Chemical communications*, 48(7), 1051-1053.
- Michalska, M., Coy, L. E., Flak, D., & rzysiecka, L. P. (2016). Reducing the gap between research and applications. *Journal of Nano science and technology*, 4(1).
- Namdari, P., Negahdari, B., & Eatemadi, A. (2017). Synthesis, properties and biomedical applications of carbon-based quantum dots: An updated review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 87, 209-222.
- Newton, G., & Utley, P. (1978). Melamine as a dietary nitrogen source for ruminants. *Journal of Animal Science*, 47(6), 1338-1344.
- Rednic, M. I., Lu, Z., Wang, P., LeCroy, G. E., Yang, F., Liu, Y., . . . Lu, F. (2015). Fluorescent carbon 'quantum' dots from thermochemical functionalization of carbon nanoparticles. *Chemical Physics Letters*, 639, 109-113.
- Rednic, M. I., Lu, Z., Wang, P., LeCroy, G. E., Yang, F., Liu, Y., . . . Sun, Y.-P. (2015). Fluorescent carbon 'quantum' dots from thermochemical functionalization of carbon nanoparticles. *Chemical Physics Letters*, 639, 109-113.
- Sarkar, S., Dutta, S., Ray, C., Dutta, B., Chowdhury, J., & Pal, T. (2015). A two-component hydrogelator from citrazinic acid and melamine: synthesis, intriguing role of reaction parameters and iodine adsorption study. *CrystEngComm*, 17(42), 8119-8129.

- Simões, E. F., Leitão, J. M., & da Silva, J. C. E. (2016). Carbon dots prepared from citric acid and urea as fluorescent probes for hypochlorite and peroxyxynitrite. *Microchimica Acta*, 183(5), 1769-1777.
- Smith, A. M., & Nie, S. (2009). Semiconductor nanocrystals: structure, properties, and band gap engineering. *Accounts of chemical research*, 43(2), 190-200.
- Sun, F., Ma, W., Xu, L., Zhu, Y., Liu, L., Peng, C., . . . Xu, C. (2010). Analytical methods and recent developments in the detection of melamine. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 29(11), 1239-1249.
- Sun, X., & Lei, Y. (2017). Fluorescent carbon dots and their sensing applications. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 89, 163-180.
- Sun, Y.-P., Zhou, B., Lin, Y., Wang, W., Fernando, K. S., Pathak, P., . . . Wang, H. (2006). Quantum-sized carbon dots for bright and colorful photoluminescence. *Journal of the American Chemical Society*, 128(24), 7756-7757.
- Venkatasami, G., & Sowa Jr, J. R. (2010). A rapid, acetonitrile-free, HPLC method for determination of melamine in infant formula. *Anal. Chim. Acta.*, 665(2), 227-230.
- Wang, T., Wang, A., Wang, R., Liu, Z., Sun, Y., Shan, G., . . . Liu, Y. (2019). Carbon dots with molecular fluorescence and their application as a "turn-off" fluorescent probe for ferricyanide detection. *Scientific reports*, 9(1), 1-9.
- Wang, Y., & Hu, A. (2014). Carbon quantum dots: synthesis, properties and applications. *Journal of Materials Chemistry C*, 2(34), 6921-6939.
- Ward, M. D. (1997). Photo-induced electron and energy transfer in non-covalently bonded supramolecular assemblies. *Chemical Society Reviews*, 26(5), 365-375.
- Xiao, D., Yuan, D., He, H., & Gao, M. (2013). Microwave assisted one-step green synthesis of fluorescent carbon nanoparticles from ionic liquids and their application as novel fluorescence probe for quercetin determination. *Journal of Luminescence*, 140, 120-125.
- Xu, L., Fang, G., Pan, M., Wang, X., & Wang, S. (2016). One-pot synthesis of carbon dots-embedded molecularly imprinted polymer for specific recognition of sterigmatocystin in grains. *Biosensors and Bioelectronics*, 77, 950-956.

- Xu, X., Ray, R., Gu, Y., Ploehn, H. J., Gearheart, L., Raker, K., & Scrivens, W. A. (2004). Electrophoretic analysis and purification of fluorescent single-walled carbon nanotube fragments. *Journal of the American Chemical Society*, 126(40), 12736-12737.
- Xu, X., Xu, G., Wei, F., Cen, Y. S., Menglan. Cheng, Xia. Chai, Yuying, Sohail, M., & Hu, Q. (2018). Carbon dots coated with molecularly imprinted polymers: A facile bioprobe for fluorescent determination of caffeic acid. *J. Colloid Interface Sci.*, 529, 568-574.
- Yang, Z.-C., Wang, M., Yong, A. M., Wong, S. Y., Zhang, X.-H., Tan, H., . . . Wang, J. (2011). Intrinsically fluorescent carbon dots with tunable emission derived from hydrothermal treatment of glucose in the presence of monopotassium phosphate. *Chemical communications*, 47(42), 11615-11617.
- Yokley, R. A., Mayer, L. C., Rezaaiyan, R., Manuli, M. E., & Cheung, M. W. (2000). Analytical method for the determination of cyromazine and melamine residues in soil using LC-UV and GC-MSD. *J. Agric. Food Chem.*, 48(8), 3352-3358.
- Yue, X., Chun-Jing, T., Huang, H., Chao-Qun, S., Zhang, Y.-K., Qun-Feng, Y., & Ai-Jun, W. (2014). Green synthesis of fluorescent carbon quantum dots for detection of Hg^{2+} . *Chin. J. Anal. Chem.*, 42(9), 1252-1258.
- Zhang, Y., Feng, J., He, M., Jiang, J., Xu, T., Zhou, L., . . . Liang, X. (2017). Efficient and stable white fluorescent carbon dots and CD-based glass thin-films via screen-printing technology for use in W-LEDs. *RSC Advances*, 7(78), 49542-49547.
- Zhang, Y., He, Y., Cui, P., Feng, X., Chen, L., Yang, Y., & Liu, X. (2015). Water-soluble, nitrogen-doped fluorescent carbon dots for highly sensitive and selective detection of Hg^{2+} in aqueous solution. *RSC Advances*, 5(50), 40393-40401.
- Zhou, J., Sheng, Z., Han, H., Zou, M., & Li, C. (2012). Facile synthesis of fluorescent carbon dots using watermelon peel as a carbon source. *Materials Letters*, 66(1), 222-224.
- Zong, J., Yang, X., Trinchì, A., Hardin, S., Cole, I., Zhu, Y., . . . Wei, G. (2014). Carbon dots as fluorescent probes for “off-on” detection of Cu^{2+} and L-cysteine in aqueous

solution. *Biosensors and Bioelectronics*, 51, 330-335.

Zuo, P., Lu, X., Sun, Z., Guo, Y., & He, H. (2016). A review on syntheses, properties, characterization and bioanalytical applications of fluorescent carbon dots. *Microchimica Acta*, 183(2), 519-542.



ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	Mr. Souliyanh Phimmasone
วัน เดือน ปี เกิด	05 JULY 1990
สถานที่เกิด	Laos
วุฒิการศึกษา	ปริญญาตรี : National university of Laos
ที่อยู่ปัจจุบัน	9W Rd, Ban Xok Village, Kaysone Phomvihane District, Savannakhet province, Laos
ผลงานตีพิมพ์	การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณเมลามีนด้วยการใช้คาร์บอน ควอนตัมดอทเป็นตัวตรวจวัด

