



รายงานการวิจัย  
เรื่อง

การเตรียมผงเคราตินมูลค่าสูงจากขนหมูเหลือทิ้ง  
Preparation of high value karatin powder from waste hair swine

นายวีรชน ภูหินกอง  
นางฐิตินาถ สุคนเขตร์  
นายอุดมศักดิ์ กิจทวี

มหาวิทยาลัยสวนดุสิต  
2558

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสวนดุสิต  
(งานวิจัยนี้ได้รับงบประมาณแผ่นดินด้านการวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2557)



รายงานการวิจัย  
เรื่อง

การเตรียมผงเคราตินมูลค่าสูงจากขนหมูเหลือทิ้ง  
Preparation of high value karatin powder from waste hair swine

นายวีรชน ภูหินกอง  
(คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต)  
ดร.ฐิตินาถ สุคนเขตร์  
(คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต)  
ดร.อุดมศักดิ์ กิจทวี  
(คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต)

มหาวิทยาลัยสวนดุสิต  
2558

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสวนดุสิต  
(งานวิจัยนี้ได้รับงบประมาณแผ่นดินด้านการวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2557)

หัวข้อวิจัย                      การเตรียมผงเคราตินมูลค่าสูงจากขนหมูเหลือทิ้ง  
ผู้ดำเนินการวิจัย                นายวีรชน ภูหินกอง  
หน่วยงาน                          คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต  
ปี พ.ศ.                                2558

งานวิจัยชิ้นนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเตรียมเคราตินจากขนหมูด้วยเทคนิคทางเคมี และ ศึกษาปัจจัยที่มีผลกระทบต่อในการเตรียมผงเคราตินจากขนหมู มีขั้นตอนเริ่มจากเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์จากชุมชนพร้อมสำรวจขั้นตอนการเอาขนหมูออกและวิธีการกำจัดขนหมูตามปกติ นำขนหมูมาแยกลักษณะที่มีคุณภาพใกล้เคียงกัน ทำความสะอาดขนหมู เปรียบเทียบการย่อยเคราติน 3 กระบวนการ คือ 1. ด้วยกรดซัลฟิวริก กรดไฮโดรคลอริก และกรดอะซิติก ที่ความเข้มข้น 2 โมลาร์ และความเข้มข้น 4 โมลาร์ 200 มิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง 2. การย่อยเคราตินขนหมูด้วยเบส โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.1, 0.5, และ 1.0 โมลาร์ 200 มิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง 3. การย่อยเคราตินขนหมูด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ที่อุณหภูมิ 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150 องศาเซลเซียส และตรวจสอบผลของการเคลือบด้วยเคราตินสังเคราะห์ได้ด้วยเทคนิค scanning electron microscope (SEM), และเทคนิค Raman spectrophotometer และตรวจลักษณะทางกายภาพ ลักษณะรูปร่างและขนาดของอนุภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดชนิดฟิลด์อิมิชชัน Field Emission Scanning Electron Microscope (FE-SEM) ผลการทดลองพบว่าสามารถใช้เทคนิคที่สามารถขยายการผลิตได้ง่ายด้วยการสลายพันธะไดออกไซด์ โดยกระบวนการ alkaline hydrolysis ซึ่งผลที่ได้สภาวะที่เหมาะสมคือที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.5 โมลาร์ และกระบวนการที่พัฒนาใหม่คือการสลายพันธะไดออกไซด์ด้วยแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งทำการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยด้วยเทคนิคนี้คืออุณหภูมิและแรงดันบรรยากาศพบว่าที่อุณหภูมิและแรงดันบรรยากาศที่เหมาะสมจะทำให้สามารถควบคุมให้เกิดการสลายเฉพาะพันธะไดซัลไฟด์ได้ โดยที่ไม่เกิดปฏิกิริยาข้างเคียงที่ไม่ต้องการหรือการทำลายพันธะเปปไทด์ โดยสภาวะที่เหมาะสมที่สามารถทำการย่อยเคราตินได้คือที่สภาวะตั้งแต่ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ที่ความดันบรรยากาศ 1,125 PSI จนถึง 120 องศาเซลเซียส ที่ความดันบรรยากาศ 1,600 PSI ซึ่งเทคนิคการใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่พัฒนาขึ้นมาใหม่นี้เป็นเทคนิคที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมเนื่องจากการใช้แก๊สของเสียจากอุตสาหกรรมให้เกิดประโยชน์และปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นผลิตภัณฑ์ที่เหลือจากปฏิกิริยาไม่มีผลิตภัณฑ์พลอยได้สารตกค้างดังเช่นปฏิกิริยา alkaline hydrolysis โดยแก๊สที่เหลือจากปฏิกิริยาจะระเหยออกจากสารละลายเคราตินได้เองเมื่อระบบเข้าสู่แรงดันบรรยากาศห้อง

<b>Research Title</b>	Preparation of high value karatin powder from waste hair swine
<b>Researcher</b>	Mr. Weerachon phoohinkong
<b>Organization</b>	Faculty of Science and Technology Suan Dusit University
<b>Year</b>	2015

This research aims to study the preparation of keratin from waste hair swine with chemical techniques and the factors that have an impact on the preparation of powdered keratin from waste hair swine. The procedure begins with the collection of samples from a community survey took steps to carry out the pork and pork usual method of hair removal. Bring pork to split hairs manner similar quality, cleaning pig hair, and compare digest keratin 3 process. i: Digest keratin waste hair swine with sulphuric acid, Hydrochloric acid, acetic acid concentration of 2 molar and 4 molar concentration of 200 ml for 24 hours. ii: Digest keratin waste hair swine with sodium hydroxide at a concentration of 0.1, 0.5, and 1.0 M, 200 ml for 24 hours. iii: : Digest keratin waste hair swine with carbon dioxide at temperatures of 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150 degrees Celsius. And determine the effect of the coating keratin synthesis techniques with scanning electron microscope (SEM), and technical Raman spectrophotometer. And the physical shape and size of the particles with an Field Emission Scanning Electron Microscope (FE-SEM). The results showed that the technique can be expanded easily break the bonds dioxide by the alkaline hydrolysis. As a result, the optimum condition is that the concentration of sodium hydroxide 0.5 M, and the new development process is to break the bonds dioxide with carbon dioxide gas. The study of factors that affect digestion technique is temperature and atmospheric pressure found at room temperature and atmospheric pressure that would make it possible to control the breakdown of the disulfide bond without reaction. the side that does not want to destroy peptide bonds. The optimum condition can digest keratin is a condition of temperature 70 °C at atmospheric pressure 1,125 PSI up to 120 °C at atmospheric pressure of 1,600 PSI. The technique uses carbon dioxide gas developed this new technique is environmentally friendly because it uses waste gas industry to benefit and reaction products from the reaction by-products, no fillers remain. Such as alkaline hydrolysis reaction by gas from the reaction solution is evaporated out of Keratin itself when pressure system into the atmosphere.

## กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยสวนดุสิต ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณแผ่นดินด้านการวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2557 และท่านผู้ทรงคุณวุฒิอ่านประเมินผลการวิจัย ที่ได้กรุณาให้ข้อเสนอแนะ ตรวจสอบ แก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ พร้อมกันนี้ คณะผู้วิจัยต้องขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต ที่ให้การสนับสนุน วัสดุอุปกรณ์ สถานที่ในการศึกษา และเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องที่ให้ความอนุเคราะห์ ข้อมูล รวมถึงผู้ประกอบการหมั้นในจังหวัดนครปฐม ที่ได้ ให้ความสะดวกในการเข้าศึกษาในพื้นที่ เพื่อรวบรวมข้อมูล และการศึกษามา ณ โอกาสนี้ด้วย

คณะผู้วิจัย  
2558

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญภาพ	ฉ
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	1
ความเป็นมาและความสำคัญ	1
วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	2
ขอบเขตการวิจัย	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
<b>บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b>	5
เคราติน	5
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	9
กรอบแนวคิดในการวิจัย	10
<b>บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย</b>	11
สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย	11
ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย	11
สถานที่ทำการวิจัย	14
<b>บทที่ 4 ผลการวิจัย</b>	15
ตัวอย่างของเสียขนหมูและการเตรียมตัวอย่างขนหมู	15
การศึกษาการย่อยเคราตินตัวอย่างขนหมู	16
การสร้างฟิล์มเคราตินจากตัวอย่างขนหมู	19
การเตรียมผงอนุภาคเคลือบเคราตินที่สกัดจากตัวอย่างขนหมู	20
<b>บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย</b>	31
สรุปผลการวิจัย	31

	หน้า
<b>บรรณานุกรม</b>	32
บรรณานุกรมภาษาต่างประเทศ	32
<b>ภาคผนวก</b>	34
ภาคผนวก ก	35
ภาคผนวก ข	40
ภาคผนวก ค	43
ภาคผนวก ง	49
ภาคผนวก จ	53
<b>ประวัติผู้วิจัย</b>	58

## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1.1 ตัวอย่างขนหมูเหลือทิ้งจากหมูหันของผู้ประกอบการหมูหันในโครงการ OTOP ต.ท่าข้าม อ.สามพราน จ.นครปฐม	2
2.1 แสดงลักษณะการเกิดพันธะไฮโดรเจนภายในโครงสร้างเคราติน (Intramolecular hydrogen bonding) ซึ่งทำให้เส้นใยเคราตินเกิดการบิดเป็นเกลียวแอลฟาเคราติน (alpha helix) ที่แข็งแรงขึ้น	6
2.2 แสดงลักษณะการเชื่อมโยงไขว้ของหมู่ sulfhydryl ในกรดอะมิโน cysteine ของเส้นใยโปรตีนเคราตินโดยการเกิดพันธะ disulfide ซึ่งทำให้ก่อรูปเป็น protofilaments	6
2.3 แสดงเส้นใยแอลฟาเคราติน (alpha helix) บิดรวมกันเป็น coiled-coils จากนั้นเมื่อแต่ละ coiled-coils มาบิดรวมกันจะเกิดเป็น protofilament และเมื่อ protofilament มาบิดรวมกันจะเป็น protofibril (1)	7
2.4 โครงสร้างของเคราตินที่ประกอบกันเป็น ก) protofibril และจะรวมกันเป็น ข) microfibril ที่ใหญ่ขึ้นอีกที (2)	7
3.1 แสดงตัวอย่างการเซตระบบรีแอกเตอร์และระบบควบคุมในการย่อยเคราตินขนหมูด้วย คาร์บอนไดออกไซด์	13
4.1 ตัวอย่างขนหมูเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมหมูหัน	15
4.2 แสดงตัวอย่างขนหมูที่ทำความสะอาดด้วยน้ำร้อนและหลักทำความสะอาดขั้นตอนสุดท้าย	16
4.3 แสดงลักษณะพื้นผิวของขนหมูหลังจากทำความสะอาดแล้วด้วยกล้องจุลทรรศน์	16
4.4 แสดงลักษณะเปรียบเทียบสีของสารละลายขนหมูที่ย่อยด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ	17
4.5 แสดงตัวอย่างลักษณะเปรียบเทียบสีของสารละลายขนหมูที่ย่อยด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ ร่วมกับตัวทำละลายน้ำ	17
4.6 แสดงยูวีสเปกตร้าของสารละลายที่ย่อยด้วยเบส (ก.) และย่อยด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ ร่วมกับน้ำ (ข.)	18
4.7 แสดงพีคย่อยที่คำนวณจากยูวีสเปกตร้าของสารละลายที่ย่อยด้วยเบส(ก.) และย่อยด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ร่วมกับน้ำ (ข.) โดยใช้การกระจายแบบเกาส์เซียน	18
4.8 แสดงยูวีสเปกตร้าของ Tryptophan, Tyrosine และ Histidine และสูตรโครงสร้างทางเคมี	19
4.9 แสดงลักษณะการเกิดเป็นไบโอพอลิเมอร์ของเคราตินด้านขวา และเคราตินที่เสียสภาพจะมีลักษณะไม่เกาะกันเป็นแผ่นด้านขวา	19
4.10 ภาพขยายจากกล้องจุลทรรศน์แสดงลักษณะฟิล์มไบโอพอลิเมอร์เคราตินที่สังเคราะห์ได้จากขนหมู	20

ภาพที่	หน้า
4.11 ภาพถ่ายอนุภาคนาโน ZnO ก่อนทำการเคลือบด้วยเคราตินที่สกัดจากขนหมูที่กำลังขยาย หนึ่งหมื่นเท่า	21
4.12 ภาพถ่ายอนุภาคนาโน ZnO ก่อนทำการเคลือบด้วยเคราตินที่สกัดจากขนหมูที่กำลังขยาย หนึ่งแสนเท่า	21
4.13 ภาพถ่ายอนุภาคนาโน ZnO หลังทำการเคลือบด้วยเคราตินที่สกัดจากขนหมูที่กำลังขยาย หนึ่งหมื่นเท่า	21
4.14 ภาพถ่ายอนุภาคนาโน ZnO หลังทำการเคลือบด้วยเคราตินที่สกัดจากขนหมูที่กำลังขยาย หนึ่งแสนเท่า	22
4.15 ภาพถ่ายอนุภาคไททาเนียมไดออกไซด์ก่อนทำการเคลือบด้วยเคราตินที่สกัดจากขนหมูที่ กำลังขยายหนึ่งหมื่นเท่า	22
4.16 ภาพถ่ายอนุภาคไททาเนียมไดออกไซด์ก่อนทำการเคลือบด้วยเคราตินที่สกัดจากขนหมูที่ กำลังขยายหนึ่งแสนเท่า	23
4.17 ภาพถ่ายอนุภาคไททาเนียมไดออกไซด์หลังทำการเคลือบด้วยเคราตินที่สกัดจากขนหมูที่ กำลังขยายหนึ่งหมื่นเท่า	23
4.18 ภาพถ่ายอนุภาคไททาเนียมไดออกไซด์หลังทำการเคลือบด้วยเคราตินที่สกัดจากขนหมูที่ กำลังขยายหนึ่งแสนเท่า	24
4.19 ภาพถ่ายอนุภาคแคลเซียมคาร์บอเนตก่อนทำการเคลือบด้วยเคราตินที่สกัดจากขนหมูที่ กำลังขยายหนึ่งหมื่นเท่า	24
4.20 ภาพถ่ายอนุภาคแคลเซียมคาร์บอเนตก่อนทำการเคลือบด้วยเคราตินที่สกัดจากขนหมูที่ กำลังขยายหนึ่งแสนเท่า	25
4.21 ภาพถ่ายอนุภาคแคลเซียมคาร์บอเนตหลังทำการเคลือบด้วยเคราตินที่สกัดจากขนหมูที่ กำลังขยายหนึ่งหมื่นเท่า	25
4.22 ภาพถ่ายอนุภาคแคลเซียมคาร์บอเนตหลังทำการเคลือบด้วยเคราตินที่สกัดจากขนหมูที่ กำลังขยายหนึ่งแสนเท่า	26
4.23 แสดงขยายกราฟรามานสเปกตร้าในช่วงความเข้มของสัญญาณ 100 หน่วย	26
4.24 แสดงกราฟรามานสเปกตร้าของตัวอย่างอนุภาค ZnO เกรตการค้ำก่อนการเคลือบ (กราฟสีน้ำเงิน) และหลังการเคลือบด้วยเคราติน (สีแดง)	27
4.25 แสดงกราฟรามานสเปกตร้าในช่วงความเข้มของสัญญาณ 50 หน่วย ของตัวอย่างอนุภาค นาโน ZnO ก่อนการเคลือบ (กราฟสีน้ำเงิน) และหลังการเคลือบด้วยเคราติน (สีแดง)	27
4.26 แสดงกราฟรามานสเปกตร้าของตัวอย่างอนุภาคนาโน ZnO ก่อนการเคลือบ (กราฟสีน้ำเงิน) และหลังการเคลือบด้วยเคราติน (สีแดง)	28
4.27 แสดงกราฟรามานสเปกตร้าในช่วงความเข้มของสัญญาณ 500 หน่วย ของตัวอย่างอนุภาค ไททาเนียมไดออกไซด์ก่อนการเคลือบ (กราฟสีน้ำเงิน) และหลังการเคลือบด้วยเคราติน (สีแดง)	28

ภาพที่	หน้า
4.27 แสดงกราฟรามานสเปกตรัมในช่วงความถี่ของสัญญาณ 500 หน่วย ของตัวอย่างอนุภาค ไททาเนียมไดออกไซด์ก่อนการเคลือบ (กราฟสีน้ำเงิน) และหลังการเคลือบด้วยเคราติน (สีแดง)	28
4.28 แสดงกราฟรามานสเปกตรัมของตัวอย่างอนุภาคไททาเนียมไดออกไซด์ก่อนการเคลือบ (กราฟสีน้ำเงิน) และหลังการเคลือบด้วยเคราติน (สีแดงและสีม่วง)	29
4.29 แสดงกราฟรามานสเปกตรัมในช่วงความถี่ของสัญญาณ 100 หน่วย ของตัวอย่างอนุภาค แคลเซียมคาร์บอเนตก่อนการเคลือบ (กราฟสีน้ำเงิน) และหลังการเคลือบด้วยเคราติน (สีแดง)	29
4.30 แสดงกราฟรามานสเปกตรัมของตัวอย่างอนุภาคแคลเซียมคาร์บอเนตก่อนการเคลือบ (กราฟสีน้ำเงิน) และหลังการเคลือบด้วยเคราติน(สีแดง)	30
ก-1 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดชนิดฟิลด์อิมิสชันรุ่น FE-SEM MODEL: HITACHI – S4700 ที่ใช้ในงานวิจัยนี้	37
ก-2 แสดงลักษณะภาพถ่ายที่ได้จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดชนิดฟิลด์อิมิสชันรุ่น FE-SEM MODEL: HITACHI – S4700 ที่ใช้ในงานวิจัยนี้	38
ก-3 ส่วนประกอบและการทำงานโดยทั่วไปของเครื่อง SEM	39
ข-1 เครื่อง TEM (Transmission Electron Microscope) ยี่ห้อ FEI รุ่น TECNAI T20 G <sup>2</sup> ที่ใช้ในงานวิจัยนี้	41
ข-2 ส่วนประกอบและการทำงานโดยทั่วไปของเครื่อง TEM	42
ค-1 ตัวอย่างการจัดโครงสร้างของผลึกแบบต่างๆ	44
ค-2 Bragg 's Law	45
ค-3 ส่วนประกอบโดยทั่วไปของหลอดรังสีเอ็กซ์	46
ค-4 แสดงการเกิดรังสีเอ็กซ์ที่โลหะเป้าหมายเมื่อยิงด้วยอิเล็กตรอน	46
ค-5 แสดงไออะแกรมของเครื่อง XRD โดยจะมีแกนหมุนสำหรับยิงรังสีไปที่ตัวอย่างที่อยู่ตรงกลาง และดีเทคเตอร์อยู่ด้านตรงกันข้ามสำหรับตรวจวัดสัญญาณที่ได้จากตัวอย่างที่ทำมุมต่อกัน	47
ค-6 แสดงส่วนประกอบภายในของเครื่อง XRD ที่ใช้ในการทดลองนี้	47
ค-7 แสดงเครื่อง XRD ที่ใช้ในการทดลองนี้	48
ง-1 แผนภาพแสดงการโหมตการเปลี่ยนระดับพลังงานของอิเล็กตรอน	51
ง-2 แผนภาพแสดงการแยกระดับพลังงานของอิเล็กตรอน ในโหมตการหมุนและการสั่นของพันธะ	51
จ-1 แผนภาพแสดงสมการของระดับพลังงานของอิเล็กตรอนและพลังงานของแสงก่อนชนและหลังชน	54
จ-2 แผนภาพแสดงการเปลี่ยนระดับพลังงานแบบ Stokes และ anti-Stokes scattering ในรูปของสัญญาณที่วัดได้	55

# บทที่ 1

## บทนำ

### ความเป็นมาและความสำคัญ

ขนหมูเหลือทิ้งเป็นปัญหาหนึ่งในจำนวนของเสียเพียงไม่กี่ชนิดจากหมูหัน โดยในขั้นตอนการทำหมูหันจำเป็นจะต้องทำการลอกขนออกก่อนนำไปหัน ซึ่งถึงแม้ว่าหมูที่นำมาทำหมูหันจะดูเหมือนสัตว์ที่มีขนน้อย แต่จากการผลิตที่ต่อเนื่องและปริมาณมากทำให้เกิดของเสียขนหมูจำนวนมาก โดยหากลอกเอาขนหมูออกมาแล้วจะเห็นว่าปริมาณขนหมูเหลือทิ้งต่อหมูหนึ่งตัวที่มากพอ ดังตัวอย่างในภาพที่ 1.1 โดยในปัจจุบันยังไม่มีวิธีการในการกำจัดที่เหมาะสม ผู้ประกอบการในชุมชนโดยส่วนมากใช้การฝังกลบ ซึ่งเมื่อมีจำนวนมากขึ้นจะทำให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อมตามมา โดยขนหมูที่มีปริมาณน้อย เช่น ทำการหันเพื่อบริโภคเองภายในครัวเรือนเป็นครั้งคราว จะสามารถใช้วิธีการเผาหรือฝังกลบได้ แต่ในกรณีที่มีจำนวนมากหากใช้วิธีฝังกลบจะทำให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อมได้เนื่องจากเป็นขยะชีวภาพที่มีกลิ่นแรงและเป็นแหล่งของการแพร่เชื้อโรคได้ นอกจากนี้แล้วยังไม่สามารถกำจัดได้ด้วยการเผาไฟเนื่องจากขนหมูเป็นเส้นใยโปรตีนที่ไม่ติดไฟ ซึ่งการใช้เตาเผาอุณหภูมิสูงจะทำให้มีค่าใช้จ่ายสูงเพิ่มขึ้น และเป็นการเพิ่มต้นทุนของการผลิตหมูหันขึ้นและทำให้ไม่คุ้มทุนต่อการผลิตหมูหันในระดับครัวเรือนหรือชุมชน เนื่องจากขนหมูเป็นเส้นใยโปรตีนเคราตินธรรมชาติที่มีคุณภาพสูงซึ่งเป็นวัตถุดิบที่มีประโยชน์ในเทคโนโลยีสมัยใหม่ด้านต่างๆหลายแขนง จึงมิได้มีแนวคิดที่จะนำขนหมูมาใช้ประโยชน์เป็นการเพิ่มมูลค่าแทนการปล่อยทิ้งให้เป็นปัญหาสิ่งแวดล้อมหรือการกำจัดที่ทำให้มีต้นทุนเพิ่มขึ้น โดยการแปลงสภาพเป็นผงเคราตินซึ่งเป็นลักษณะที่เหมาะสมแก่การนำไปประยุกต์ใช้ประโยชน์ด้านต่างๆได้ง่าย เช่น ใช้เป็นวัสดุรองรับสำหรับเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ การเสริมแรงในสารพอลิเมอร์ เครื่องสำอาง เทคโนโลยีการเคลือบผิว รวมทั้งเทคโนโลยีเกิดใหม่ เช่น เทคโนโลยีระบบนำส่งยา เป็นต้น อย่างไรก็ตามการผลิตผงเคราตินคุณภาพสูงจากขนหมูยังไม่เคยมีรายงานการวิจัยเผยแพร่มาก่อนจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องทำการทดลองศึกษาวิจัยต่อไป



ภาพที่ 1.1 ตัวอย่างขนหมูเหลือทิ้งจากหมูหันของผู้ประกอบการหมูหันในโครงการ OTOP ต.ท่าข้าม อ.สามพราน จ.นครปฐม

#### วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

วัตถุประสงค์หลักภายใต้แผนงานวิจัย

1. พัฒนาคุณภาพในกระบวนการผลิตด้านความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม
2. เสริมสร้างผู้ประกอบการระดับชุมชนด้วยเทคโนโลยีในการลดต้นทุนและสร้างมูลค่าเพิ่ม

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัยย่อย

1. ศึกษาการเตรียมเคราตินจากขนหมูด้วยเทคนิคทางเคมี
2. ศึกษาปัจจัยที่มีผลกระทบในการเตรียมผงเคราตินจากขนหมู

### ขอบเขตการวิจัย

1. สํารวจรวบรวมข้อมูลของผู้ประกอบการหมูหันใน ต.ท่าข้าม อ.สามพราน จ.นครปฐม ทั้งทำ การผลิตหมูหันเป็นอาชีพประจำและอาชีพเสริม
2. รวบรวมตัวอย่าง (ขนหมูเหลือทิ้งจากการทำหมูหัน) และขั้นตอนการผลิต เพื่อทำการ ปรับปรุงหรือหาเทคนิคกรรมวิธีในการเก็บหรือแยกขนหมูให้เหมาะสมต่อการนำไปเตรียม เป็นผงเคราติน
3. ศึกษาการเตรียมผงเคราตินจากขนหมูหันด้วยเทคนิคทางเคมี
4. ศึกษาปัจจัยที่มีผลในการเตรียมผงเคราตินจากขนหมูหัน
5. ถ่ายทอดเทคโนโลยีหรือเผยแพร่ความรู้และเทคนิคที่ได้จากการวิจัยแก่ผู้ประกอบการหมูหัน หรือผู้ที่สนใจ

### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

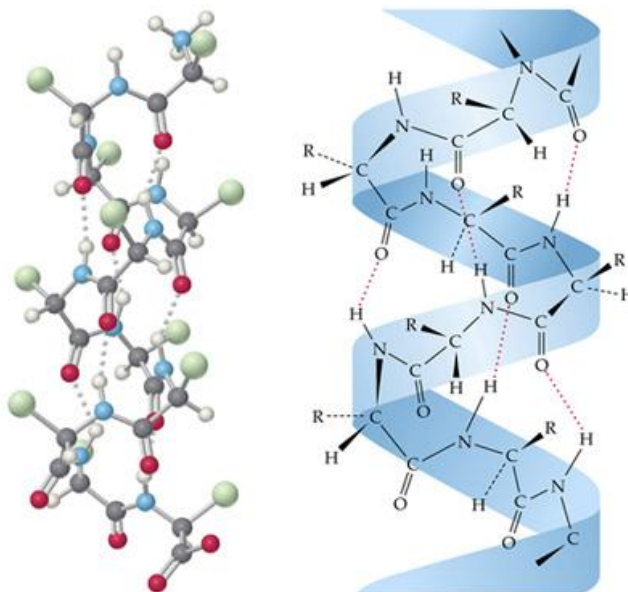
1. ลดปัญหาด้านสิ่งแวดล้อมที่เกิดจากของเสียขนหมูเหลือทิ้งให้ผู้ประกอบการหมูหันและสังคม รอบข้าง ผู้ที่ได้รับประโยชน์ได้แก่ ผู้ประกอบการหมูหันและชุมชนในบริเวณข้างเคียงใน ต.ท่าข้าม อ.สามพราน จ.นครปฐม
2. ลดภาระของเสียและรายจ่ายที่ไม่จำเป็นในการกำจัดขนหมูเหลือทิ้งและยังเป็นการเพิ่มมูลค่า จากขนหมูเหลือทิ้ง ผู้ที่ได้รับประโยชน์ได้แก่ ผู้ประกอบการหมูหัน และวิสาหกิจชุมชนโครงการ หนึ่งตำบลหนึ่งผลิตภัณฑ์ ต.ท่าข้าม อ.สามพราน จ.นครปฐม
3. เนื่องจากผงเคราตินเป็นวัสดุที่มีคุณสมบัติพิเศษสามารถนำมาเป็นวัตถุดิบเพื่อทำการศึกษาค้นคว้า พัฒนาในเทคโนโลยีด้านต่างๆได้หลากหลายและจากการสืบค้นยังไม่พบรายงานการศึกษาการ เตรียมผงเคราตินด้วยเทคนิคนี้มาก่อน จึงสามารถนำผลการวิจัยเสนอในการประชุมวิชาการ หรือคัดเลือกประเด็นที่สำคัญเพื่อส่งตีพิมพ์ผลงานวิจัยในวารสารการวิจัยได้ โดยผู้ที่ได้รับ ประโยชน์ได้แก่ นักวิชาการ นักวิจัยที่เกี่ยวข้องในด้านต่างๆ เช่น นาโนเทคโนโลยี วัสดุชีวภาพ เทคโนโลยีชีวภาพ การอนุรักษ์สิ่งแวดล้อม เครื่องสำอาง เทคโนโลยีเกิดใหม่ต่างๆตลอดจน อุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้อง

## บทที่ 2

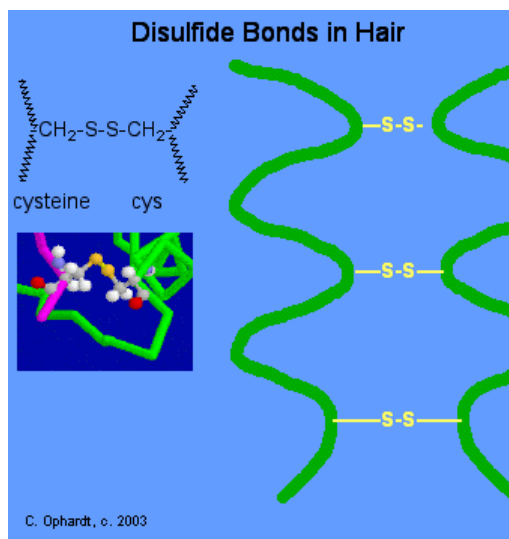
### แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### เคราติน

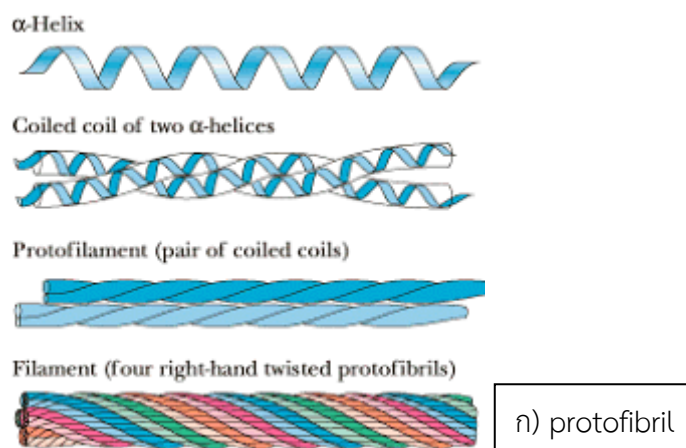
เคราติน (Keratin) คือสายโซ่โพลีเปปไทด์ที่ขดรวมกันหลายๆสายและเชื่อมต่อกันโดยพันธะไดซัลไฟด์ของกรดอะมิโนซิสเทอีน (amino acid cysteine, มีสูตรทางเคมีคือ  $\text{HO}_2\text{CCH}(\text{NH}_2)\text{CH}_2\text{SH}$ ) ที่อยู่ในสายโซ่ ซึ่งมีทำให้มีการเชื่อมต่อแบบเชื่อมไขว้คล้ายกับยางวัลคาไนซ์ จึงทำให้มีความแข็งแรงและยืดหยุ่นสูง มีหน้าที่สร้างความแข็งแรงและความยืดหยุ่น ซึ่งการเกิดริ้วรอยของวัยขึ้นบนชั้นผิวหนังเนื่องจากสารเคราตินในชั้นผิวลดลงนั่นเอง จึงเป็นแนวคิดหนึ่งของการนำเคราตินมาใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางซึ่งยังคุณสมบัติด้านการป้องกันรังสียูวีและไม่ก่อให้เกิดอาการแพ้ต่อผิวหนังอีกด้วยเนื่องจากเป็นวัสดุธรรมชาติที่เข้ากับผิวของสิ่งมีชีวิตได้เป็นอย่างดี, นอกจากนี้เคราตินยังมีหน้าที่สร้างความยืดหยุ่นให้ผนังหลอดเลือด มีส่วนช่วยในการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ซึ่งทำให้สามารถพัฒนาเคราตินมาใช้สำหรับเทคโนโลยีชีวภาพสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้เป็นอย่างดี รวมทั้งยังเป็นส่วนประกอบของเยื่อกระจกตาและเลนส์ตาด้วยเป็นกลุ่มของเส้นใยโปรตีนที่มีอยู่ในเส้นผม เล็บ เขาสัตว์ ขนสัตว์ต่างๆ เช่น ขนไก่ ขนนก ขนแกะ รวมทั้งขนหมูด้วย เคราตินแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ แอลฟาเคราติน (alpha helix หรือ  $\alpha$ -helix) ซึ่งพบในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และเบต้าเคราตินซึ่งพบในนกและสัตว์เลื้อยคลาน โครงสร้างของแอลฟาเคราตินที่พบในเส้นผมและเขาสัตว์จะเป็นเกลียวเวียนขวาประกอบด้วยเกลียวแอลฟา 3 เส้น ม้วนพันกันเป็น protofibril และ protofibril จำนวน 11 หน่วยจะมารวมตัวเป็นมัดเล็ก ๆ เรียก microfibril ( มี 2 หน่วยอยู่ตรงกลาง อีก 9 หน่วยล้อมรอบ) ในเส้นผมจะมี microfibril เป็นจำนวนมากฝังอยู่ใน matrix protein ซึ่งมีปริมาณกรดอะมิโนซิสเทอีนสูงยึดกันด้วยพันธะไดซัลไฟด์ ในเขาและเขี้ยวของสัตว์จะมีลักษณะเช่นเดียวกับในเส้นผมแต่มีพันธะไดซัลไฟด์ใน matrix protein มากกว่าซึ่งทำให้มีการเชื่อมไขว้ของเส้นใยโปรตีนมากกว่าจึงแข็งแรงกว่าไม่สามารถยืดได้เหมือนเส้นผม



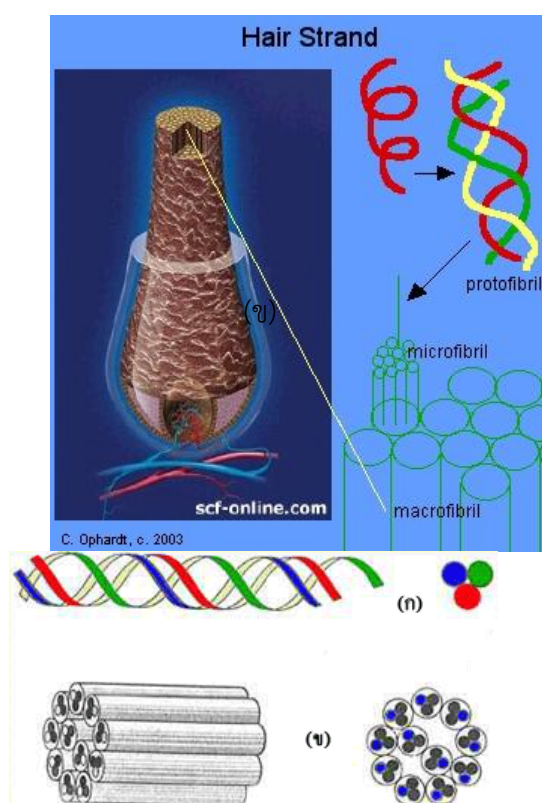
ภาพที่ 2.1 แสดงลักษณะการเกิดพันธะไฮโดรเจนภายในโครงสร้างเคราติน (Intramolecular hydrogen bonding) ซึ่งทำให้เส้นใยเคราตินเกิดการบิดเป็นเกลียวแอลฟาเคราติน (alpha helix) ที่แข็งแรงขึ้น



ภาพที่ 2.2 แสดงลักษณะการเชื่อมโยงของหมู่ sulfhydryl ในกรดอะมิโน cysteine ของเส้นใยโปรตีนเคราตินโดยการเกิดพันธะ disulfide ซึ่งทำให้ก่อรูปเป็น protofilaments (2)



ภาพที่ 2.3 แสดงเส้นใยแอลฟาเคราติน (alpha helix) บิดรวมกันเป็น coiled-coils จากนั้นเมื่อแต่ละ coiled-coils มาบิดรวมกันจะเกิดเป็น protofilament และเมื่อ protofilament มาบิดรวมกันจะเป็น protofibril (1)



ภาพที่ 2.4 โครงสร้างของเคราตินที่ประกอบกันเป็น ก) protofibril และจะรวมกันเป็น ข) microfibril ที่ใหญ่ขึ้นอีกที (2)

เคราตินจากสัตว์ เช่น ขนไก่ ขนหมู เป็นของเสียจากอุตสาหกรรมและเป็นของเสียที่สร้างปัญหาต่อสิ่งแวดล้อมอย่างหนึ่งเนื่องจากเป็นของเสียชีวภาพและทำการกำจัดได้ยาก จึงได้

มีการศึกษาวิจัยเพื่อหาทางแก้ไขปัญหานี้ด้วยวิธีต่างๆมากมาย เช่น การปรับปรุงโดยการย่อยเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์ เป็นต้น เนื่องจากเคราตินเป็นโปรตีนที่เป็นส่วนประกอบของสัตว์ซึ่งรวมทั้งมนุษย์ด้วย เคราตินจึงเป็นวัสดุที่มีความเหมาะสมสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆได้หลากหลายโดยทำการปรับปรุงให้อยู่ในรูปที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในเทคโนโลยีขั้นสูงที่มีมูลค่าสูงได้ เช่น ใช้ในการนำมาพัฒนาเกี่ยวกับเทคโนโลยีชีวภาพ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เทคโนโลยีการนำส่งยา (drug delivery) พอลิเมอร์ชีวภาพ สามารถใช้ในเทคโนโลยีเครื่องสำอางเนื่องจากมีคุณสมบัติป้องกันแสงยูวีและไม่ก่อให้เกิดอาการแพ้รวมทั้งสามารถย่อยสลายได้ง่าย การนำขนหมูที่เป็นของเหลือทิ้งซึ่งยังไม่มีการศึกษามาก่อน การนำมาศึกษาปรับปรุงเป็นเคราตินมูลค่าสูงจึงเป็นแนวทางที่ควรทำการศึกษา ซึ่งการนำเคราตินไปใช้งานด้านต่างๆจะขึ้นอยู่กับลักษณะทางกายภาพของเคราตินเป็นหลัก โดยเคราตินในลักษณะผงเป็นรูปที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในด้านที่มีมูลค่าสูงได้หลากหลายมากที่สุดรวมทั้งทำให้สามารถนำไปปรับปรุงให้มีลักษณะตามต้องการได้ง่ายที่สุด ปัจจุบันได้มีการศึกษาเพื่อทำการผลิตผงเคราตินจากขนสัตว์(ขนโก) ด้วยเทคนิคต่างๆซึ่งส่วนมากจะเป็นการใช้วิธีทางกายภาพเป็นหลัก เช่น เทคนิคการบด milling (ball, jet), sonication, spray drying และ rotary blades เป็นต้น ซึ่งจากคุณสมบัติของเส้นใยเคราตินที่มีความเหนียวทนและยืดหยุ่นได้จึงทำให้การบดเพื่อให้มีขนาดเล็กด้วยเทคนิคต่างๆเหล่านี้เป็นไปได้ยากจึงมีการปรับปรุงทางเคมีเพื่อช่วยให้การบดง่ายขึ้นแต่ยังไม่สามารถทำให้ได้คุณภาพที่สูงพอเนื่องจากมีขนาดอนุภาคใหญ่ และมีลักษณะอนุภาคที่ได้ไม่แน่นอนแตกต่างกัน การปรับปรุงเทคนิคด้วยการใช้เทคนิคอื่นมารวมด้วยจะทำให้ได้ผลเคราตินที่มีขนาดเล็กลงและมีความสม่ำเสมอของอนุภาคมากขึ้น เช่น การใช้เทคนิค spray drying แต่ทำให้มีค่าใช้จ่ายที่สูงขึ้นมากเมื่อเทียบกับคุณภาพของผลิตภัณฑ์ผงเคราตินที่ได้ อย่างไรก็ตามการเตรียมผงเคราตินคุณภาพสูงด้วยเทคนิคทางเคมีจึงเป็นแนวทางที่มีความเหมาะสมที่สุดโดยการทำปฏิกิริยารีดักชันเพื่อทำลายพันธะไดซัลไฟด์โคเวเลน ตัวอย่างการสกัดเคราตินจากขนสัตว์ โดย sulphitolysis ด้วย *m*-bisulphite ซึ่งพันธะไดซัลไฟด์ของคิสตินจะแตกออกไปเป็น cysteine thiol (หรือรูป reduced keratin) โดยใช้ซัลไฟต์ ดังปฏิกิริยาในสมการที่ 8.1



โดย WSSW หมายถึงพันธะไดซัลไฟด์ที่เชื่อมไขว้ของเส้นใยเคราติน

$\text{SO}_3^{2-}$  คือซัลไฟต์

$\text{WS}^-$  คือ reduced keratin ที่ได้

$\text{WSSO}^{3-}$  คือ กลีโอส Bunte keratin

ซึ่งนอกจากตัวอย่างนี้แล้วสามารถใช้สารตัวอื่นในการแยกพันธะไดซัลไฟด์และพันธะไฮโดรเจนของเคราตินได้ เช่น ใช้ mercaptoethanol และยูเรีย ซึ่งแนวคิดในงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาเพื่อใช้วิธีทางเคมีทำให้เคราตินออกมาอยู่ในรูปสารละลายซึ่งจะสามารถทำให้มีความ

บริสุทธิ์สูงได้ง่ายทำให้ได้เคราตินคุณภาพสูง โดยศึกษาการปรับสภาวะต่างๆที่เกี่ยวข้องในการเกิดปฏิกิริยา เช่น ความเป็นกรด-เบส ความเข้มข้นของสารละลายตั้งต้นต่างๆ ชนิดของตัวทำละลาย และเวลาในการเกิดปฏิกิริยา เป็นต้น

### งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สำหรับแนวคิดในการสังเคราะห์ผงเคราตินด้วยเทคนิคทางเคมีนี้เป็นแนวคิดใหม่ซึ่งยังไม่เคยมีมาก่อนโดยเฉพาะกับขนหมู ซึ่งโดยส่วนมากจะศึกษาขนไก่เนื่องจากเป็นของเสียจากอุตสาหกรรมอาหารที่มีเป็นจำนวนมากและโดยส่วนมากเป็นการใช้เทคนิคทางกายภาพ เช่น การบดบั่นด้วยใบมีด และอาจมีการใช้เทคนิคทางเคมีช่วยเพื่อให้เส้นใยมีความแข็งแรงหรือกรอบขึ้นใบมีดสามารถตัดหรือบดได้ง่ายขึ้น งานวิจัยที่ใกล้เคียงจะเป็นการนำขนสัตว์มาทำการย่อยด้วยวิธีทางเคมีจากนั้นทำการสังเคราะห์ให้อยู่ในรูปอื่น เช่น เส้นใย เป็นต้น โดยจะกล่าวเฉพาะการเตรียมเคราตินด้วยเทคนิคทางเคมีดังนี้

A. Aluigi และคณะ (2007) ทำการศึกษาเปรียบเทียบโครงสร้างเคราตินที่ได้จากการละลายด้วยตัวทำละลายน้ำ สารละลายกรดฟอร์มิก โดยศึกษาเกี่ยวกับการละลายด้วยตัวทำละลายทั้งสอง ทำการศึกษารดอะมิโน และการกระจายของมวลโมเลกุล ที่ได้จากการทำละลายด้วยตัวทำละลายทั้งสองชนิดโดยใช้เทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) และ SDS-PAGE Electrophoresis ผลจากการวัดความขุ่น (Turbidity) แสดงให้เห็นว่าเคราตินที่ละลายด้วยกรดฟอร์มิกอยู่ในรูปที่มีความโปร่งใสมากกว่า มีความคงตัวมากกว่าและไม่มีเกาะตัวเป็นก้อนเกิดขึ้น ทำการศึกษาโครงสร้างของเคราตินที่ได้ด้วยเทคนิค Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) และเทคนิค X-ray diffraction (XRD)

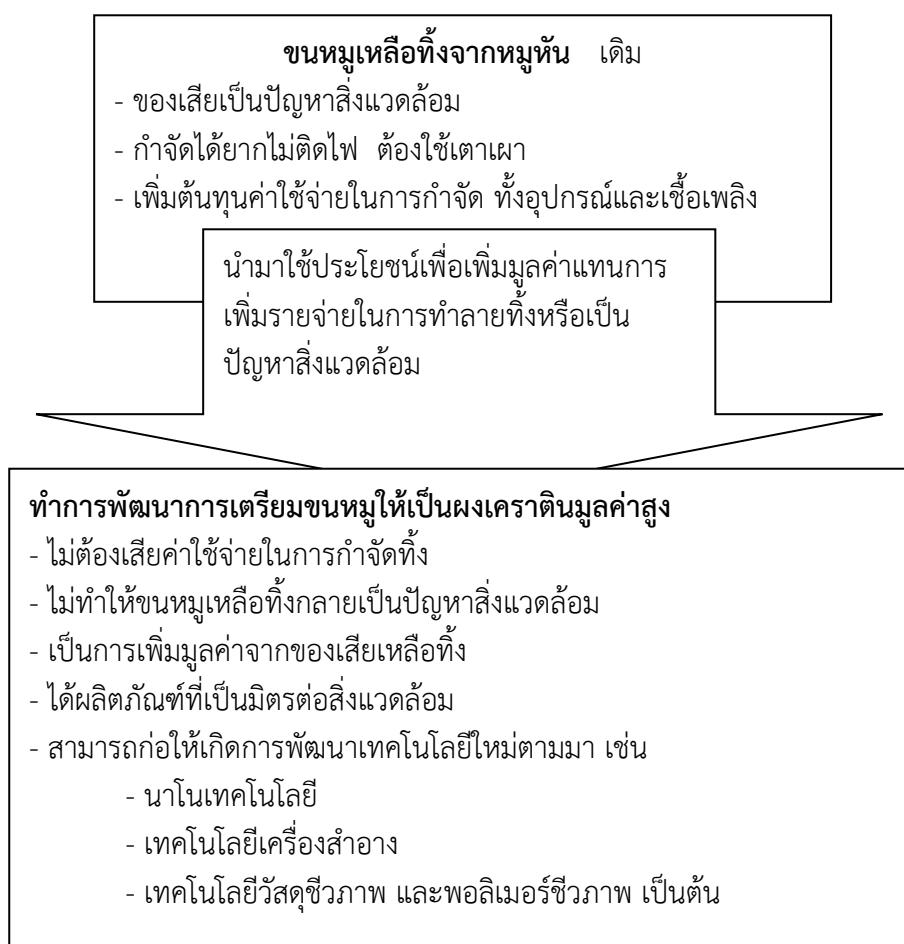
Jiashen Li และคณะ (2009) เตรียมอนุภาคเคราตินขนาดเล็กด้วยเทคนิค electrospun โดยผสมกับสารละลาย poly (L-lactic acid) (PLLA) จากนั้นทำการเตรียมให้เป็นเส้นใยโดยเทคนิค electrospun และศึกษาเกี่ยวกับการเสื่อมสภาพของเส้นใยเป็นหลัก เปอร์เซ็นต์ของเคราตินที่ติดอยู่กับเส้นใยและหลุดออกที่เวลาต่างๆ เป็นต้น ซึ่งเส้นใยเคราตินเป็นวัสดุที่ใช้ในงานด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ โดยในงานวิจัยนี้ได้ทำการเตรียมเคราตินโดยการใช้น้ำสกัดแช่ในสารละลายเบส จากนั้นปรับความเป็นกรด-เบส ของสารละลายให้เป็นกลาง ซึ่งจะทำให้ได้เคราตินที่มีลักษณะเป็นผงออกมาก่อน จากนั้นจึงนำไปผสมกับ PLLA และเตรียมเป็นเส้นใยเคราตินด้วยเทคนิค electrospinning

Z. Pedram Rad และคณะ (2012) ทำการเตรียมผงนาโนเคราตินจากขนไก่ด้วยเทคนิค electrospray โดยในการทดลองนี้พบว่าสารละลายที่เหมาะสมที่สุดคือ trifluoroacetic acid ซึ่งทำให้สามารถสังเคราะห์อนุภาคเคราตินที่มีขนาด 53 นาโนเมตร อย่างไรก็ตามการสังเคราะห์ด้วยเทคนิค electrospray เป็นเทคนิคที่มีข้อจำกัดทางเทคนิคและอุปกรณ์ซึ่งไม่สามารถทำการสังเคราะห์ในเชิงปริมาณได้

Yun-Xian Wang และ Xue-Jun Cao (2012) ทำการสกัดเคราตินจากขนไก่โดยใช้ hydrophobic ionic liquid (IL), 1-hydroxyethyl-3-methylimidazolium bis (trifluoromethanesulfonyl) amide ([HOEMIm][NTf<sub>2</sub>]) จากผลการทดลองพบว่าเคราตินที่

สกัดได้สามารถละลายในน้ำได้ดีในขณะที่ IL ไม่ละลายน้ำ ซึ่งทำให้สามารถทำการสกัดและแยกเอาเคราติน ออกมาได้ง่าย ทำการศึกษาผลของปัจจัยที่มีส่วนเกี่ยวข้องต่อการสกัด เช่น ความเข้มข้นของ IL,  $\text{NaHSO}_3$  อุณหภูมิในขณะทำปฏิกิริยา เวลาในการทำปฏิกิริยา และหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุด ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าที่สภาวะที่ดีที่สุดที่สามารถทำการสกัดเคราตินได้ประมาณ 21 เปอร์เซ็นต์ ที่สัดส่วนของขนไก่กับ  $\text{NaHSO}_3$  เท่ากับหนึ่งต่อหนึ่งโดยมวล และสัดส่วนของขนไก่กับ IL เท่ากับหนึ่งต่อสี่สิบโดยมวล ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ซึ่งตัวทำละลายที่ใช้สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ง่ายเนื่องจากสามารถทำการแยกกลับได้ง่าย โดยในงานวิจัยนี้นำมาใช้ต่อได้ถึง 5 ครั้ง โดยแต่ละรอบสามารถได้ตัวทำละลายกลับมาถึง 95 เปอร์เซ็นต์

### กรอบแนวคิดในการวิจัย



## บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

### สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

#### สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

1. กรอไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid, HCl) มวลโมเลกุล 36.46 กรัมต่อโมล ความบริสุทธิ์ 96.5 ถึง 38.0 % เกรดการทดลอง J.T. Baker ของบริษัท Baker Analyzed
2. กรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) มวลโมเลกุล 98.08 กรัมต่อโมล ความบริสุทธิ์ 51 % เกรดการทดลอง J.T. Baker ของบริษัท Baker Analyzed
3. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide, NaOH) มวลโมเลกุล 40 กรัมต่อโมล เกรดการทดลอง Univar ของบริษัท Ajax Finechem Pty Ltd.
4. ตัวอย่างขนหมู

#### เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

1. เครื่องวัดความเป็นกรดต่าง
2. เครื่องชั่งตวงน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง รุ่น 202A ยี่ห้อ Precisa
3. เครื่องกวนสาร ให้ความร้อน Hot Plate Stirrer Model
4. ตู้อบสาร รุ่น UM 400 ยี่ห้อ Memmert
5. ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 25 50 250 500 และ 1000 มิลลิลิตร พร้อมฝาปิด
6. แ่งแก้วคนสาร
7. กระบอกตวงขนาด 10 50 และ 100 มิลลิลิตร
8. หลอดหยดพร้อมจุกยาง
9. ซ้อนตักสาร
10. ปีกเกอร์ขนาด 50 250 500 1000 และ 4000 มิลลิลิตร
11. Büchner funnel
12. กระดาษกรอง Whatman Scheicher & Schuell เบอร์ 1
13. ปุ่มรุ่น R-300 ยี่ห้อ BOECO Germany
14. กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดชนิดฟิลอิมิซัน
15. กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน
16. เครื่องวิเคราะห์การเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ หรือ X-ray Diffractometer (XRD)

### ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

#### 1 การเก็บตัวอย่าง

ทำการเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์จากชุมชนและบ้านผู้ประกอบการ พร้อมสำรวจขั้นตอนการเอา  
ขนหมูออก และวิธีการกำจัดขนหมูตามปกติ

โดยการเก็บตัวอย่างจะทำการติดต่อดังต่อไปนี้กับผู้ประกอบการชุมชนโดยตรงตามคณะวิจัยชุด และโดยการประสานงานกับหน่วยงานที่รับผิดชอบตามคณะวิจัยชุดพร้อมกัน

## 2 ขั้นตอนการทดลอง

- โดยเมื่อได้ตัวอย่างขมจากกลุ่มตัวอย่างแล้วนำมาคัดแยกกลุ่มตามลักษณะของขมที่ได้ในกรณีที่มีคุณภาพของขมต่างกันหรือมีกรรมวิธีการเอาขมออกต่างกัน

- จากนั้นทำการทดลองโดยการแยกขมแต่ละตัวอย่างเป็นส่วนสองส่วนโดยส่วนแรกล้างทำความสะอาดขมด้วยน้ำ และส่วนที่สองล้างด้วยน้ำ สารซักล้าง และตัวทำละลายเคมี

- ทำการทดลองละลายขมในตัวทำละลายทางเคมีด้วยตัวรีดิคซ์ต่างๆเพื่อศึกษาเปรียบเทียบ ได้แก่ กรด เบส และ คาร์บอนไดออกไซด์ร่วมกับน้ำ

### การย่อยเคราตินขมด้วยกรด (acid hydrolysis)

ทำการย่อยเคราตินขมด้วยกรดสามชนิดเพื่อเปรียบเทียบผลของชนิดกรดที่ใช้ ได้แก่ กรดซัลฟิวริก กรดไฮโดรคลอริก และกรดอะซิติก ที่ความเข้มข้น 2 โมลาร์ และความเข้มข้น 4 โมลาร์ ปริมาตรกรด 200 มิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ต่อตัวอย่างขม 100 และ 1,000 มิลลิกรัม

### การย่อยเคราตินขมด้วยเบส (alkaline hydrolysis)

ศึกษาการย่อยเคราตินขมด้วยเบสโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.1, 0.5, และ 1.0 โมลาร์ 200 มิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ต่อตัวอย่างขม 100 และ 1,000 มิลลิกรัม

### และการย่อยเคราตินขมด้วยคาร์บอนไดออกไซด์

ศึกษาการย่อยเคราตินขมด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ โดยทำการศึกษาอุณหภูมิที่เกิดไฮโดรไลซิสซึ่งทำให้เคราตินเสียสภาพ โดยเซตรีแอกเตอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร ตัวอย่างขม 200 มิลลิกรัม ปริมาตรน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ทำการศึกษาการเกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 90, 100, 110, 120, 130, 140, และ 150 องศาเซลเซียส

จากนั้นทำการศึกษาผลของแรงดันคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการย่อยเคราตินขมด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ร่วมกับน้ำ โดยเลือกสภาวะอุณหภูมิที่ยังไม่เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสพันธะเปปไทด์ โดยเซตรีแอกเตอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร ตัวอย่างขม 200 มิลลิกรัม น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ โดยทำการศึกษาที่แรงดันต่างๆตามอุณหภูมิสูงสุดที่ได้จากขั้นตอนแรก



ภาพที่ 3.1 แสดงตัวอย่างการเซตระบบปรีแอกเตอร์และระบบควบคุมในการย่อยเคราตินขนหมูด้วยคาร์บอนไดออกไซด์

- ทำการเคลือบเคราตินให้อยู่ในรูปผงอนุภาคเคลือบเคราตินด้วยการผสมผงของอนุภาค ZnO เกรดการค้า, อนุภาคนาโน ZnO, TiO<sub>2</sub>, และอนุภาค CaCO<sub>3</sub>. ในอัตราส่วนหนึ่งต่อร้อยของอนุภาคของแข็งต่อสารละลายเคราตินที่สกัดได้โดยปริมาตร จากนั้นแยกเอาส่วนของแข็งออกนำมาอบไล่ความชื้นที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

- ทำการศึกษาผลของการเคลือบด้วยคราตินสังเคราะห์ได้ด้วยเทคนิค scanning electron microscope (SEM), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), และเทคนิค Raman spectrophotometer.

- วิเคราะห์ผลการทดลองและทำการศึกษาเพิ่มเติมหรือปรับปรุงสภาวะในการสังเคราะห์ เพื่อให้ได้สภาวะที่เหมาะสมที่สุด

- เปรียบเทียบผลการสังเคราะห์ระหว่างขนหมูที่ล้างทำความสะอาดและไม่ได้ล้างทำความสะอาดของแต่ละตัวอย่าง โดยหากมีความแตกต่างกันจะนำมาเป็นข้อมูลในการวิเคราะห์เพื่อหาเทคนิคในการล้างหรือปรับปรุงเทคนิคในการลอกขนหมูเพื่อให้ได้ขนหมูในสภาวะที่เหมาะสมต่อการเตรียมผงคราติน

- สรุปผลการทดลอง

## 2.1 ตรวจสอบลักษณะทางเคมีและทางกายภาพของคราตินที่สังเคราะห์ได้

- ทำการตรวจสอบลักษณะทางกายภาพลักษณะรูปร่างและขนาดของอนุภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

ทำการเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ด้วยเทคนิคกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ชนิดฟิลด์อีมิชชัน Field Emission Scanning Electron Microscope (FE-SEM) โดยทำการล้างสารตัวอย่างให้สะอาดด้วยน้ำกลั่นและเตรียมตัวอย่างให้แห้งปราศจากความชื้นโดยทำการนำตัวอย่างไปอบที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างเพียงเล็กน้อยไปติดบนเทปกาวที่เกาะติดตัวอย่างแล้วนำไปเคลือบด้วยทองหรือแพลททินัมด้วยเทคนิคการสปัตเตอริงเพื่อให้ตัวอย่างมีสภาพการนำไฟฟ้าที่ดี จากนั้นจึงนำเข้าเครื่องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ทำการถ่ายภาพที่กำลังขยายต่างคือ 1,000 5,000 50,000 และ 100,000 เท่า

- ทำการตรวจสอบลักษณะทางกายภาพลักษณะรูปร่างและขนาดของคราตินที่สังเคราะห์ได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน

- ทำการตรวจสอบโครงสร้างทางเคมีเพื่อยืนยันผลของคราตินที่สังเคราะห์ได้ด้วยเทคนิคการดูดกลืนแสงยูวีของสารละลายที่สกัดได้ และวิเคราะห์โหมดการสั่นพ้องของโปรตีนด้วยการกระเจิงแบบรามาน (Raman Spectroscopy)

## สถานที่ทำการวิจัย

- 1 ศูนย์เครื่องมือปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต
- 2 คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- 3 คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- 4 ศูนย์เทคโนโลยีไมโครอิเล็กทรอนิกส์ ศูนย์เทคโนโลยีอิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์แห่งชาติ

## บทที่ 4 ผลการวิจัย

### ตัวอย่างของเสียขนหมูและการเตรียมตัวอย่างขนหมู

1. จากการเก็บตัวอย่างของเสียขนหมูพบว่า ขนหมูเป็นของเสียชนิดเดียวที่เหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมหมูหัน โดยของเสียขนหมูที่ได้มีลักษณะที่ปนมากับชั้นหนังและเลือด เนื่องจากขั้นตอนการเอาขนหมูออกจะใช้การลวกน้ำร้อนที่ตัวหมูและชุดขนและหนังติดออกมาด้วย ซึ่งเป็นส่วนเดียวของหมูที่ต้องทิ้งต่อสิ่งแวดล้อม ไม่สามารถนำไปขายได้ ทำให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อมเป็นขยะของเสีย โดยทั่วไปจะปล่อยให้เน่าหรือปล่อยให้แห้งไม่สามารถทำการเผาได้เนื่องจากไม่ติดไฟทั้งในกรณีที่ปล่อยให้แห้งแล้ว ซึ่งลักษณะตัวอย่างของเสียขนหมูที่ได้และกรรมวิธีในการลอกหนังขนหมูจะเหมือนกันเนื่องจากใช้กรรมวิธีในการลอกขนหมูเดียวกัน ดังรูปที่ 4.1



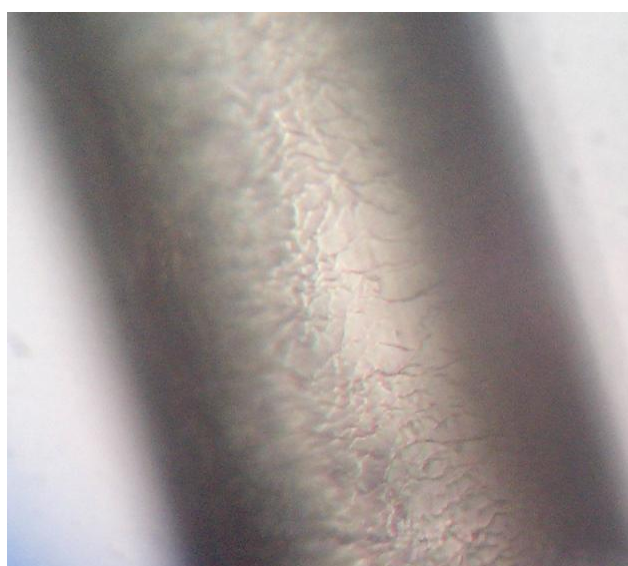
ภาพที่ 4.1 ตัวอย่างขนหมูเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมหมูหัน

2. การทำความสะอาดตัวอย่างของเสียขนหมูเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมหมูหัน โดยการนำตัวอย่างของเสียขนหมูมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำเปล่าจำนวนสามรอบ จากนั้นนำมาแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลลาร์ ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง จากนั้นนำมากรอง และล้างด้วยน้ำกลั่นจนสะอาด กระทั่งน้ำที่ได้จากการล้างมีค่าความเป็นกรดเบสใกล้เคียง 7 จะได้ตัวอย่างขนหมูที่สะอาด ซึ่งสามารถทำการกำจัดเนื้อหรือหนังรวมทั้งไขมันที่ปนเปื้อนออกไปได้ ดังรูปที่ 4.1 และ รูปที่ 4.2 ซึ่งแสดงให้เห็นลักษณะพื้นผิวของขนหมูหลังจากทำความสะอาดแล้วด้วยกล้องจุลทรรศน์



ภาพที่ 4.2 แสดงตัวอย่างขนหมูที่ทำความสะอาดด้วยน้ำ (ซ้าย) และหลักทำความสะอาดขั้นตอนสุดท้าย (ขวา)

โดยในตัวอย่างที่ใช้ จะได้ปริมาณขนหมูสะอาดโดยน้ำหนักแห้ง ประมาณร้อยละ 5.7 ของปริมาณของเสียขนหมูโดยน้ำหนักเปียกทั้งหมด



ภาพที่ 4.3 แสดงลักษณะพื้นผิวของขนหมูหลังจากทำความสะอาดแล้วด้วยกล้องจุลทรรศน์

#### การศึกษาการย่อยเคราตินตัวอย่างขนหมู

1 การย่อยเคราตินขนหมูด้วยกรด (acid hydrolysis) พบว่าไม่สามารถทำการสลายพันธะไดซัลไฟด์เคราตินขนหมูได้ด้วยกรดไฮโดรคลอริก กรดซัลฟิวริก กรดอะซิติก และกรดไนตริก ที่ความเข้มข้น 2 และ 4 โมลาร์ ที่อุณหภูมิห้อง

2 การย่อยเคราตินขนหมูด้วยเบส (alkaline hydrolysis) พบว่าสามารถเกิดปฏิกิริยากับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ได้ตั้งแต่ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ เวลา 3 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ที่สัดส่วนขนหมู 0.25 กรัม ต่อสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 200 มิลลิลิตร

3 การย่อยเคราตินขนหมูด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ร่วมกับน้ำ โดยทำการศึกษาการเสื่อมสภาพของโปรตีนจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยน้ำที่พันธะเปปไทด์เป็นเวลา 18 ชั่วโมง พบว่า เคราตินจากตัวอย่างขนหมูจะเริ่มเสื่อมสภาพที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส ซึ่งจากการเปรียบเทียบกับรายงานการวิจัยอื่นพบว่าเคราตินจากแหล่งอื่นเช่น ขนไก่ เล็บมือ เส้นผม เคราตินจะเสื่อมสภาพจากการไฮโดรไลซิสด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส และจากรายงานการวิจัยเป็นที่ยอมรับกันทั่วไปว่าเคราตินจะคงสภาพในน้ำที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส และต่ำกว่า จึงได้ทำการเลือกสภาวะในการย่อยเคราตินขนหมูด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะอุณหภูมิ 70 และ 95 องศาเซลเซียส และทำการศึกษาที่สภาวะอุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เพื่อให้มั่นใจว่าเกิดเพียงการสลายของพันธะไดซัลไฟด์และไม่เกิดการทำลายพันธะเปปไทด์ จากผลการทดลองพบว่าสามารถเกิดการย่อยเคราตินของขนหมูได้บางส่วนที่สภาวะทั้งสภาวะอุณหภูมิต่ำตั้งแต่ 70 องศาเซลเซียส ที่สภาวะความดันบรรยากาศ 1,125 PSI และจนถึง 120 องศาเซลเซียส ที่ความดันบรรยากาศ 1,600 PSI และที่อุณหภูมิสูงกว่า 120 องศาเซลเซียส (130, 140, 150, และ 200 องศาเซลเซียส) จะเกิดการเสถียรภาพของเคราติน



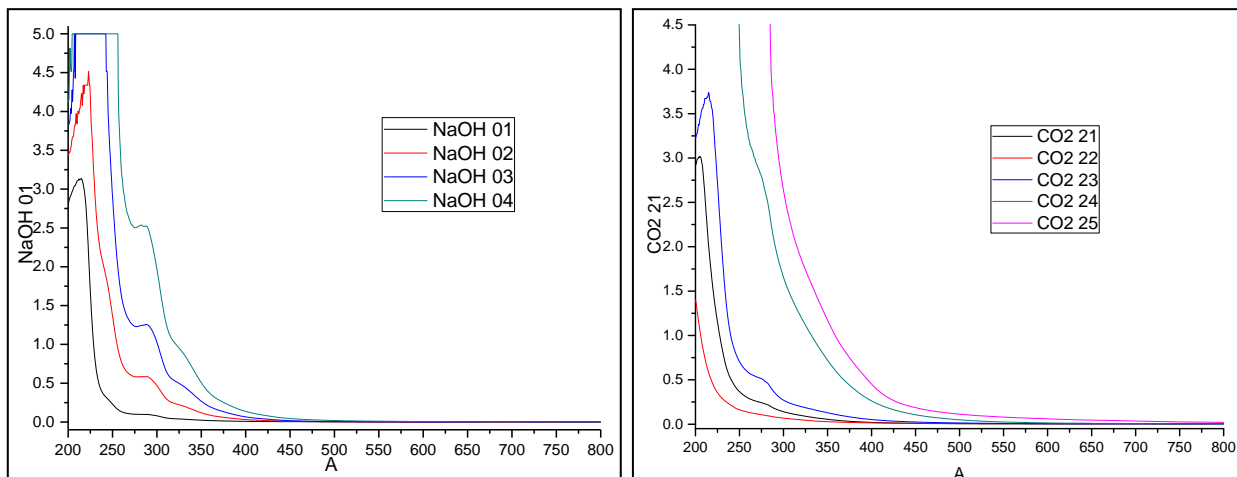
ภาพที่ 4.4 แสดงลักษณะเปรียบเทียบสีของสารละลายขนหมูที่ย่อยด้วยไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ 200 มิลลิลิตร ต่อตัวอย่างขนหมู 25 มิลลิกรัม (ก.) ไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ 200 มิลลิลิตร ต่อตัวอย่างขนหมู 250 มิลลิกรัม (ข.) ไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ 200 มิลลิลิตร ต่อตัวอย่างขนหมู 25 มิลลิกรัม (ค.) และไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ 200 มิลลิลิตร ต่อตัวอย่างขนหมู 250 มิลลิกรัม (ง.) ตามลำดับ



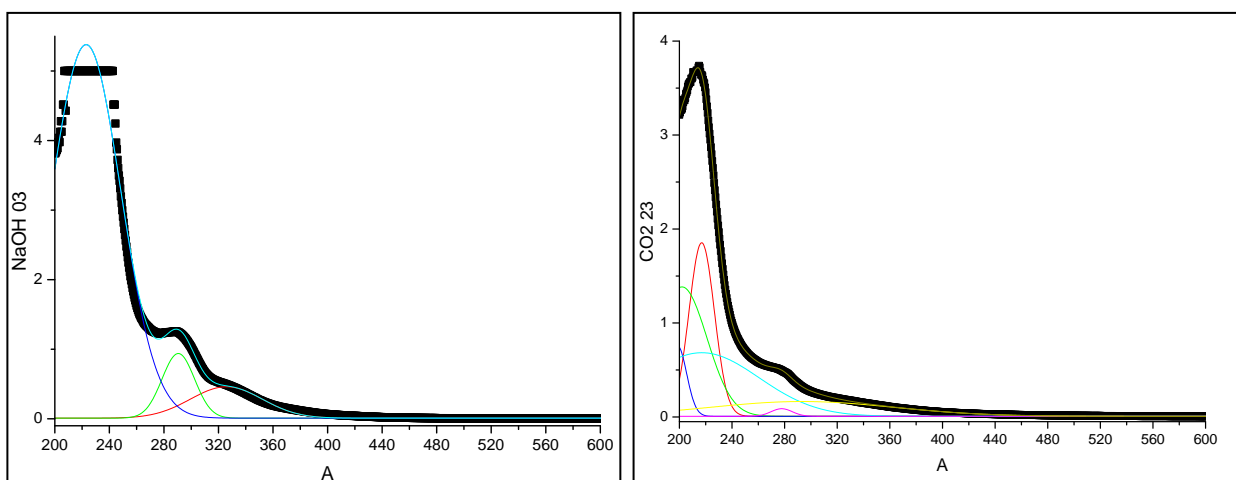
ภาพที่ 4.5 แสดงตัวอย่างลักษณะเปรียบเทียบสีของสารละลายขนหมูที่ย่อยด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ร่วมกับน้ำที่สภาวะ ความดัน 1,107 PSI (ก.) 1,125 PSI ที่สภาวะอุณหภูมิ 70 °C (ข.) และที่ความดันสูงกว่า 1,600 PSI และอุณหภูมิ 130°C, 140°C, และ 200°C (ค., ง., และ จ.) ตามลำดับ

นำสารละลายเคราตินที่ย่อยด้วยเบสและย่อยด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ร่วมกับน้ำที่สภาวะต่างๆมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่องยูวีวิสิเบิลสเปกโตรสโกปี ซึ่งพบว่า

สารละลายที่ย่อยได้มีค่าความเข้มข้นเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของเบสจนถึงความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ ตามลำดับ และที่ความดันและอุณหภูมิเพิ่มขึ้นตามลำดับสำหรับการย่อยด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ ร่วมกับน้ำ



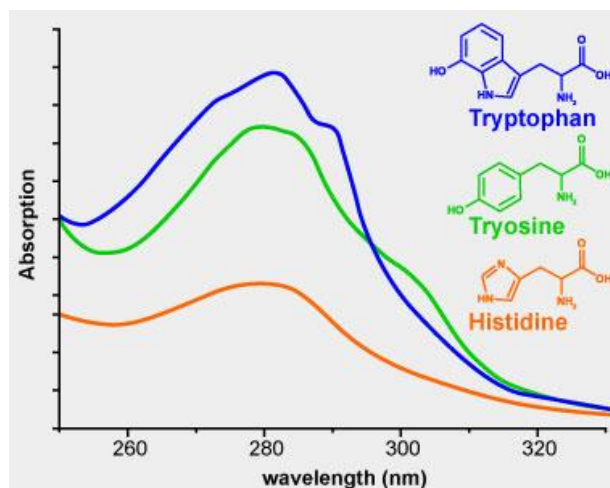
ภาพที่ 4.6 แสดงยูวีสเปกตรัมของสารละลายที่ย่อยด้วยเบส (ก.) และย่อยด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ ร่วมกับน้ำ (ข.)



ภาพที่ 4.7 แสดงฟลูออโรสเปกตรัมที่คำนวณจากยูวีสเปกตรัมของสารละลายที่ย่อยด้วยเบส(ก.) และย่อยด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ร่วมกับน้ำ(ข.) โดยใช้การกระจายแบบเกาส์เซียน

จากข้อมูลที่ได้พบว่าตำแหน่งยอดฟลูออโรสเปกตรัมของสารละลายที่ย่อยด้วยเบสและย่อยด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ร่วมกับน้ำมียอดฟลูออโรสเปกตรัมที่ตำแหน่งและมีความสูงต่างกัน โดยจากตำแหน่งฟลูออโรสเปกตรัมที่ได้พบว่าใกล้เคียงกับ Tryptophan, Tyrosine และ Histidine ที่ตำแหน่งในช่วงความยาวคลื่น 280 ถึง 290 นาโนเมตร และสำหรับ Tyrosine จะมีค่าการดูดกลืนที่ตำแหน่งความยาวคลื่น 300 ถึง 310

นาโนเมตร อย่างไรก็ตามต้องอาศัยผลจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอื่นยืนยันเพิ่มเติม เนื่องจากลักษณะการดูดกลืนของทั้งสามอยู่ในช่วงที่ซ้อนทับกันและมีลักษณะสเปกตรัมที่ขึ้นหลายตำแหน่ง



ภาพที่ 4.8 แสดงตัวอย่างยูวีสเปกตรัมของ Tryptophan Tyrosine และ Histidine และสูตรโครงสร้างทางเคมี

#### การสร้างฟิล์มเคราตินจากตัวอย่างขนหมู

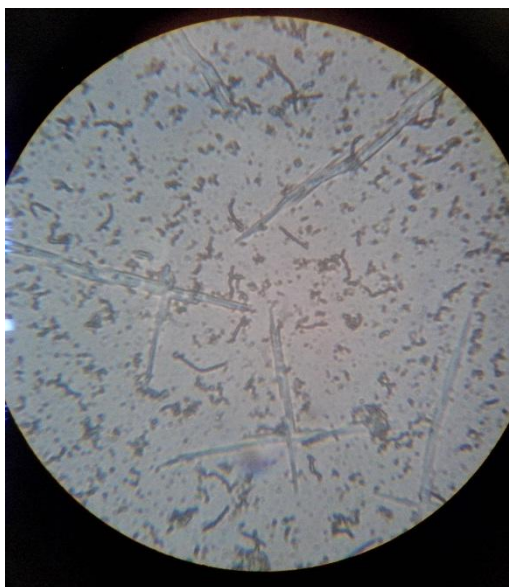
นำสารละลายเคราตินที่ย่อยได้จากเทคนิคการใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์มาทำการหยดลงบนแผ่นแก้วสไลด์พบว่าตัวอย่างเคราตินที่ไม่เสียสภาพโปรตีนจะมีลักษณะเป็นแผ่นแข็ง ส่วนตัวอย่างเคราตินที่เสียสภาพจะมีลักษณะร่วนเป็นเม็ด ภาพที่ 4.9



ภาพที่ 4.9 แสดงลักษณะการเกิดเป็นไบโอพอลิเมอร์ของเคราตินด้านขวา และเคราตินที่เสียสภาพจะมีลักษณะไม่เกาะกันเป็นแผ่น (ซ้าย)

จากภาพที่ 4.9 เป็นตัวอย่างของฟิล์มไบโอพอลิเมอร์ของเคราติน ที่ได้จากการใช้สารละลายเคราตินที่สกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ร่วมกับน้ำเป็นตัวทำละลาย โดยเป็นเคราตินที่เสียสภาพที่สกัด

ที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส จะมีลักษณะไม่เกาะกันเป็นแผ่นด้านซ้าย และตัวอย่างที่เกิดเป็นไบโอพอลิเมอร์ของเคราตินด้านขวาเป็นตัวอย่างสารละลายเคราตินที่สกัดที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 4.10 ภาพขยายจากกล้องจุลทรรศน์แสดงลักษณะฟิล์มไบโอพอลิเมอร์เคราตินที่สังเคราะห์ได้จากขนหมู

#### การเตรียมผงอนุภาคเคลือบเคราตินที่สกัดจากตัวอย่างขนหมู

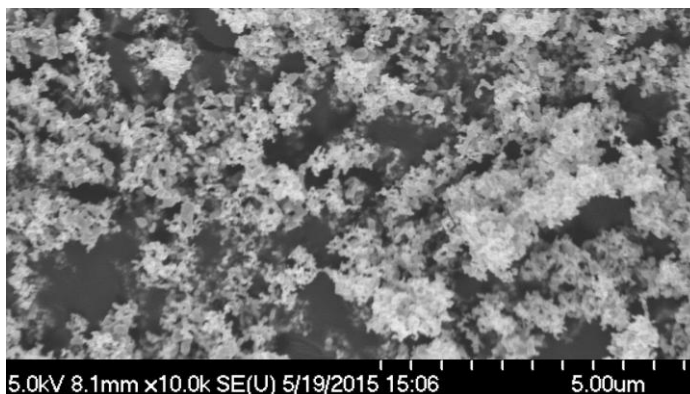
ภาพถ่ายของผงอนุภาคเคลือบเคราตินที่สกัดจากขนหมูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดเพื่อศึกษาลักษณะทางกายภาพเชิงจุลภาคของอนุภาค โดยทำการเปรียบเทียบภาพก่อนและหลังการเคลือบด้วยเคราติน และทำการวิเคราะห์องค์ประกอบของเคราตินที่มีอยู่ในอนุภาคที่ทำการเคลือบ โดยการวิเคราะห์จากโหมดการสั่นพ้องของโปรตีนของเคราตินด้วยเทคนิคการกระเจิงแบบรามาน

1 ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

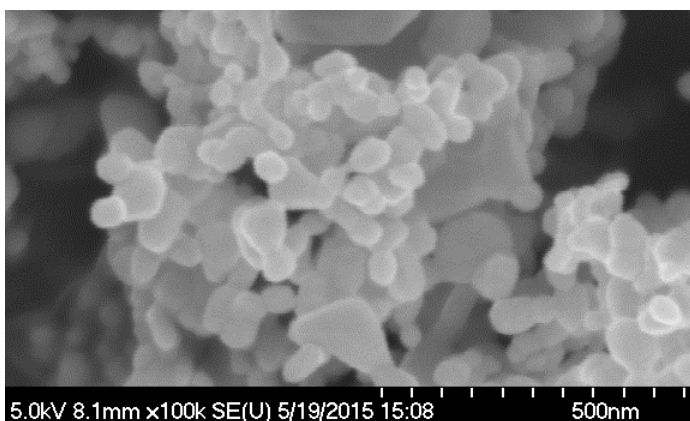
1.1 อนุภาคนาโน ZnO

ก่อนทำการเคลือบด้วยเคราตินที่สกัดจากขนหมู

ผลที่ได้จากภาพถ่ายที่กำลังขยายหนึ่งแสนเท่าพบว่าไม่สามารถสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงได้ ภาพถ่ายที่กำลังขยายหนึ่งหมื่นเท่าจะพบว่ามีลักษณะคล้ายการเกาะกลุ่มกันของอนุภาค (ภาพที่ 4.11) ซึ่งอาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงสมบัติของผิวอนุภาคเนื่องจากมีเคราตินเคลือบ หรืออาจเกิดจากเคราตินเป็นตัวเชื่อมประสานอนุภาค

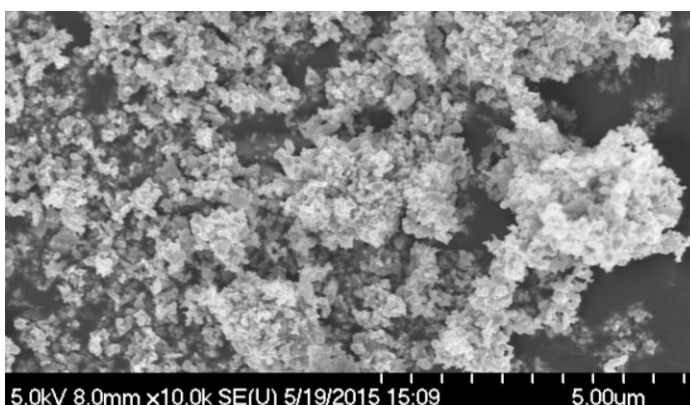


ภาพที่ 4.11 ภาพถ่ายอนุภาคนาโน ZnO ก่อนทำการเคลือบด้วยเคราตินที่สกัดจากขนหมูที่กำลังขยายหนึ่งหมื่นเท่า

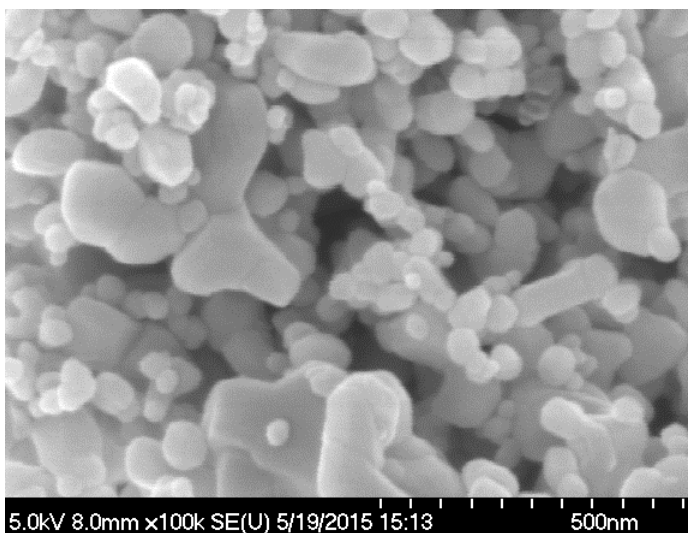


ภาพที่ 4.12 ภาพถ่ายอนุภาคนาโน ZnO ก่อนทำการเคลือบด้วยเคราตินที่สกัดจากขนหมูที่กำลังขยายหนึ่งแสนเท่า

ภาพถ่ายอนุภาคนาโน ZnO ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด หลังทำการเคลือบด้วยเคราตินที่สกัดจากขนหมู



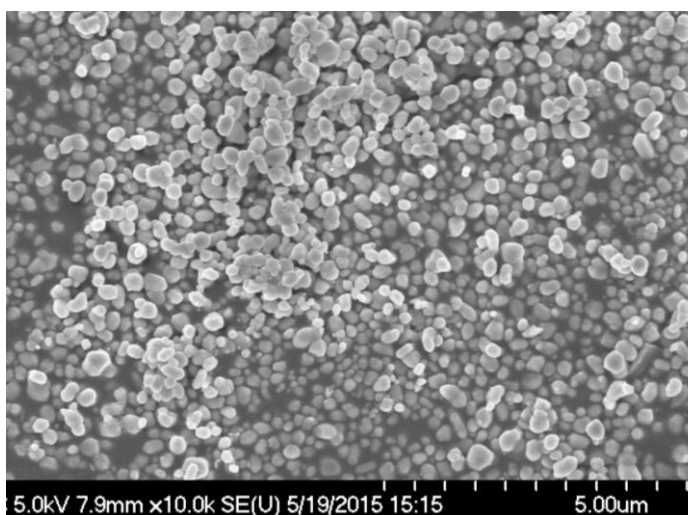
ภาพที่ 4.13 ภาพถ่ายอนุภาคนาโน ZnO หลังทำการเคลือบด้วยเคราตินที่สกัดจากขนหมูที่กำลังขยายหนึ่งหมื่นเท่า



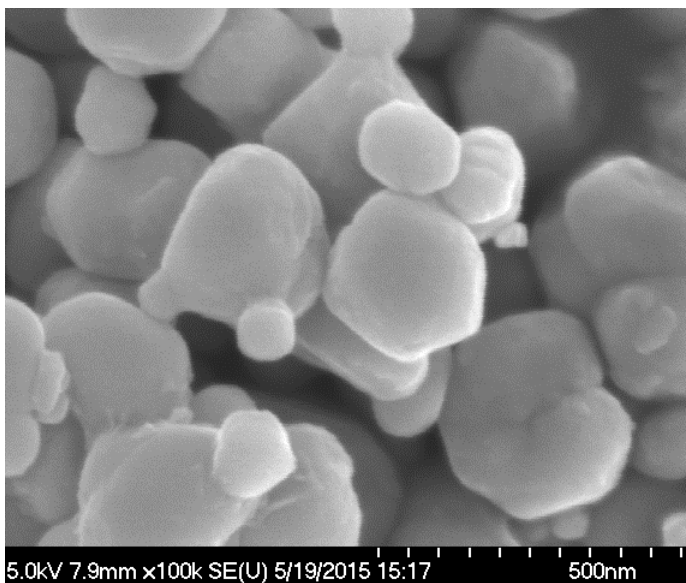
ภาพที่ 4.14 ภาพถ่ายอนุภาคนาโน ZnO หลังทำการเคลือบด้วยเคลราตินที่สกัดจากขนหมูที่กำลังขยายหนึ่งแสนเท่า

#### 1.2 อนุภาคไททาเนียมไดออกไซด์

ก่อนทำการเคลือบด้วยเคลราตินที่สกัดจากขนหมู

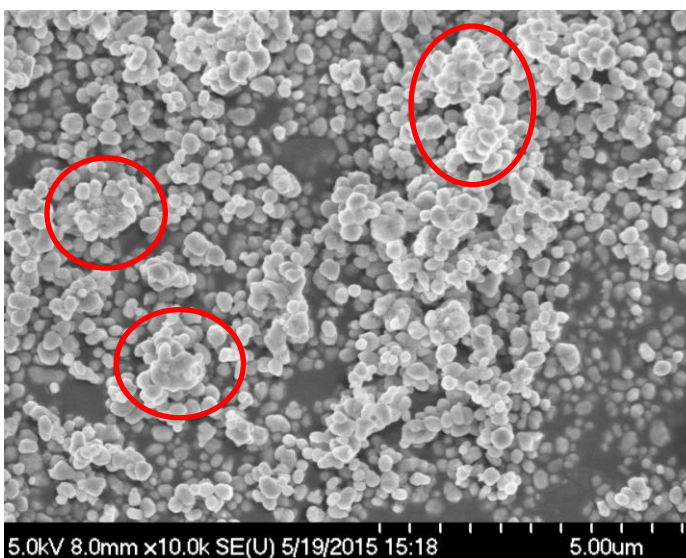


ภาพที่ 4.15 ภาพถ่ายอนุภาคไททาเนียมไดออกไซด์ก่อนทำการเคลือบด้วยเคลราตินที่สกัดจากขนหมูที่กำลังขยายหนึ่งหมื่นเท่า

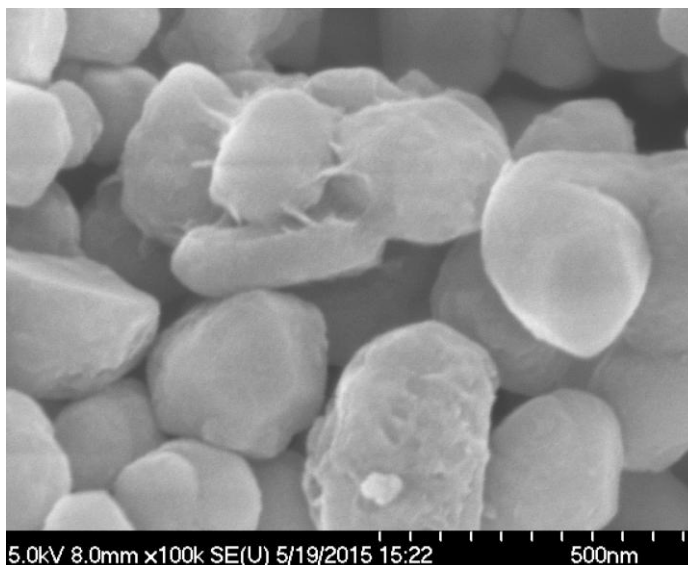


ภาพที่ 4.16 ภาพถ่ายอนุภาคไททาเนียมไดออกไซด์ก่อนทำการเคลือบด้วยคราตินที่สกัดจากขนหมูที่กำลังขยายหนึ่งแสนเท่า

หลังทำการเคลือบด้วยคราตินที่สกัดจากขนหมู



ภาพที่ 4.17 ภาพถ่ายอนุภาคไททาเนียมไดออกไซด์หลังทำการเคลือบด้วยคราตินที่สกัดจากขนหมูที่กำลังขยายหนึ่งหมื่นเท่า

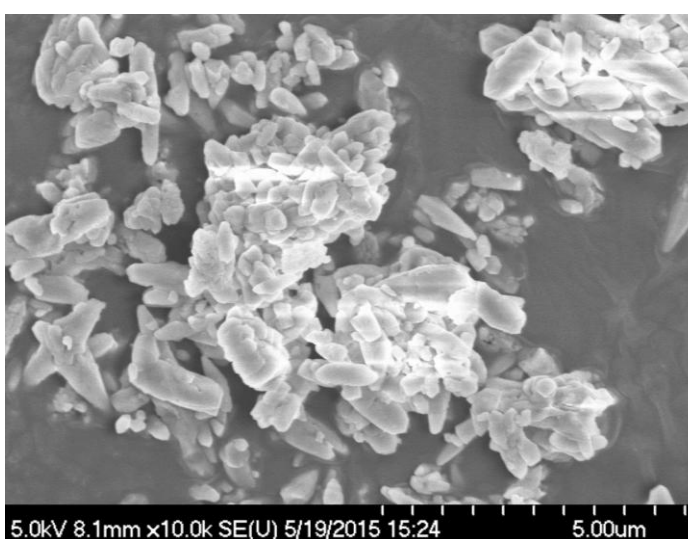


ภาพที่ 4.18 ภาพถ่ายอนุภาคไททาเนียมไดออกไซด์หลังทำการเคลือบด้วยคราตินที่สกัดจาก  
 ขนหมูที่กำลังขยายหนึ่งแสนเท่า

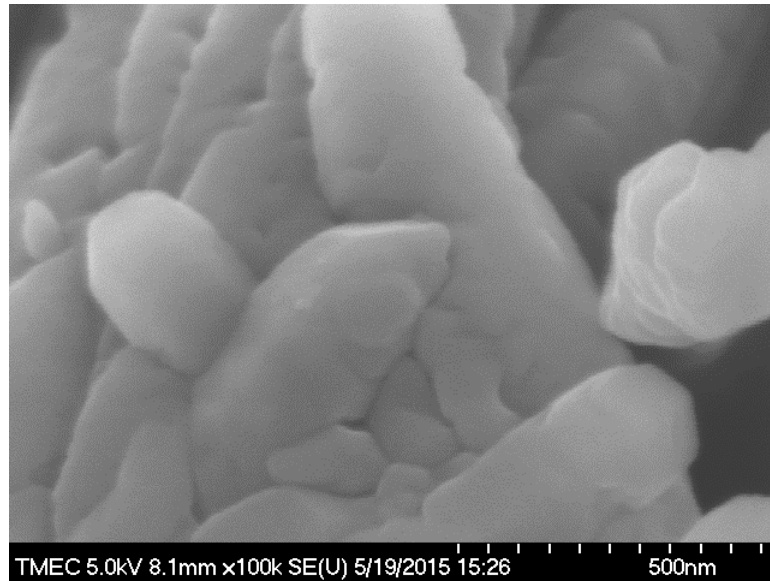
ภาพถ่ายอนุภาคไททาเนียมไดออกไซด์หลังการเคลือบด้วยคราตินพบว่า มีลักษณะ  
 การเกาะกลุ่มกันของอนุภาค โดยมีลักษณะเกาะกลุ่มเชื่อมกันของอนุภาคดังแสดงในวงกลม  
 ในภาพที่ 4.17 สำหรับภาพกำลังขยายสูงขึ้น ที่หนึ่งแสนเท่า ยังไม่สามารถบอกได้ชัดเจนว่ามี  
 การเคลือบที่ผิว

### 1.3 อนุภาคแคลเซียมคาร์บอเนต

ก่อนทำการเคลือบด้วยคราตินที่สกัดจากขนหมู

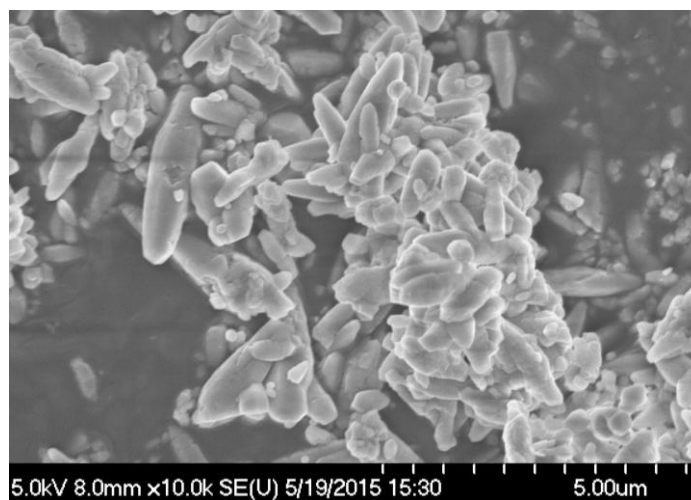


ภาพที่ 4.19 ภาพถ่ายอนุภาคแคลเซียมคาร์บอเนตก่อนทำการเคลือบด้วยคราตินที่สกัดจาก  
 ขนหมูที่กำลังขยายหนึ่งหมื่นเท่า

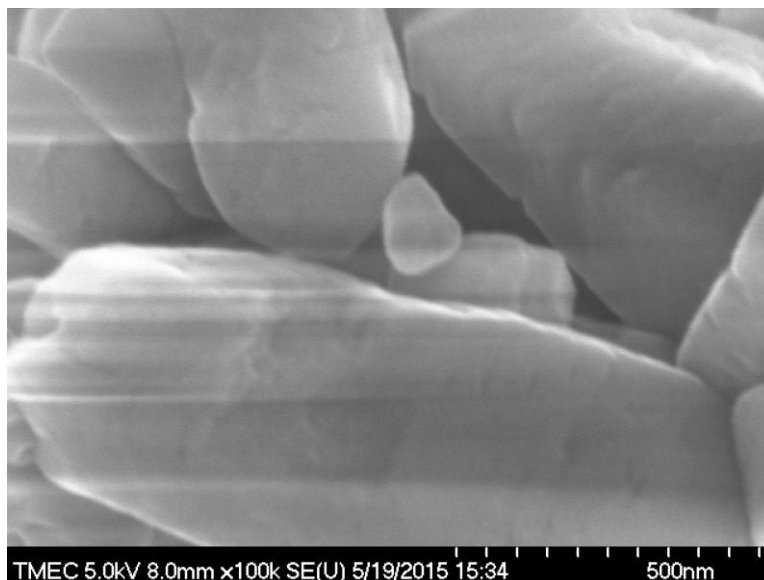


ภาพที่ 4.20 ภาพถ่ายอนุภาคแคลเซียมคาร์บอเนตก่อนทำการเคลือบด้วยเคราตินที่สกัดจาก  
 ขนหมูที่กำลังขยายหนึ่งแสนเท่า

หลังทำการเคลือบด้วยเคราตินที่สกัดจากขนหมู



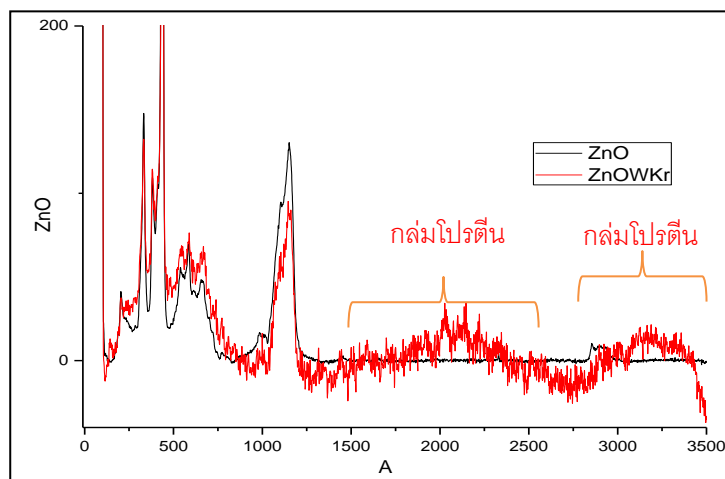
ภาพที่ 4.21 ภาพถ่ายอนุภาคแคลเซียมคาร์บอเนตหลังทำการเคลือบด้วยเคราตินที่สกัดจาก  
 ขนหมูที่กำลังขยายหนึ่งหมื่นเท่า



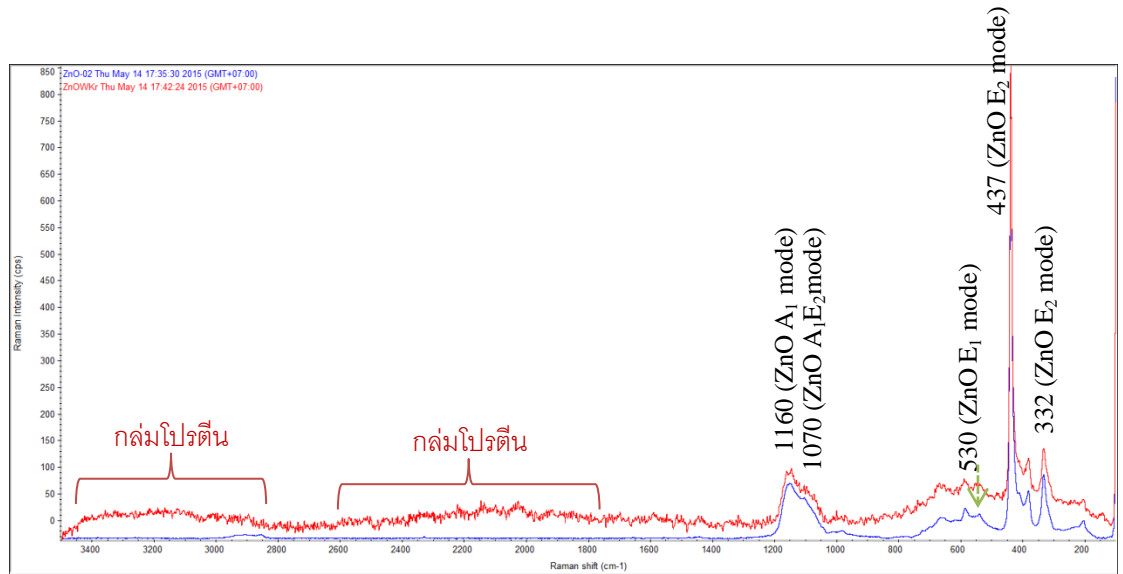
ภาพที่ 4.22 ภาพถ่ายอนุภาคแคลเซียมคาร์บอเนตหลังทำการเคลือบด้วยเคราตินที่สกัดจาก  
ขนมที่กำลังขยายหนึ่งแสนเท่า

2 การวิเคราะห์องค์ประกอบของเคราตินด้วยเทคนิคการกระเจิงแบบรามาน

2.1 ผลการวิเคราะห์ด้วยการกระเจิงแบบรามานของอนุภาค ZnO เกรดการค้า

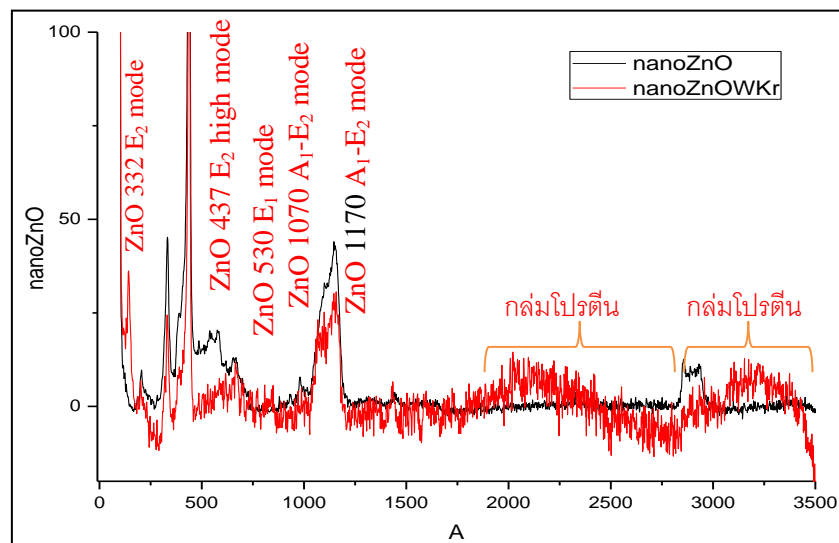


ภาพที่ 4.23 แสดงขยายกราฟรามานสเปกตรัมในช่วงความเข้มของสัญญาณ 100 หน่วย ของ  
ตัวอย่างอนุภาค ZnO เกรดการค้าก่อนการเคลือบ (กราฟสีดำ) และหลังการ  
เคลือบด้วยเคราติน (สีแดง)

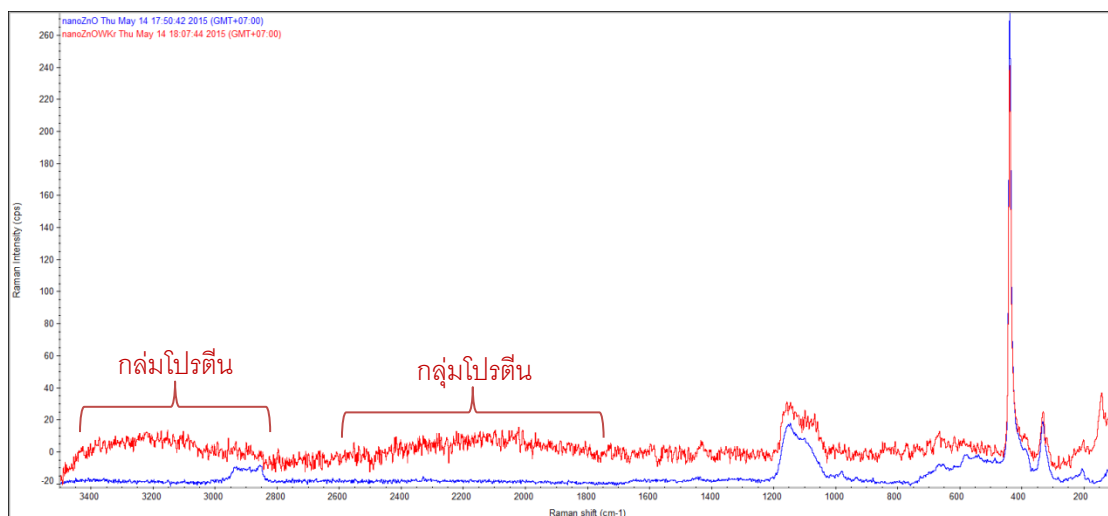


ภาพที่ 4.24 แสดงกราฟรามานสเปกตราของตัวอย่างอนุภาค ZnO เกรดการค้าก่อนการเคลือบ (กราฟสีน้ำเงิน) และหลังการเคลือบด้วยเคราติน (สีแดง)

## 2.2 ผลการวิเคราะห์ด้วยการกระเจิงแบบรามานของอนุภาคนาโน ZnO

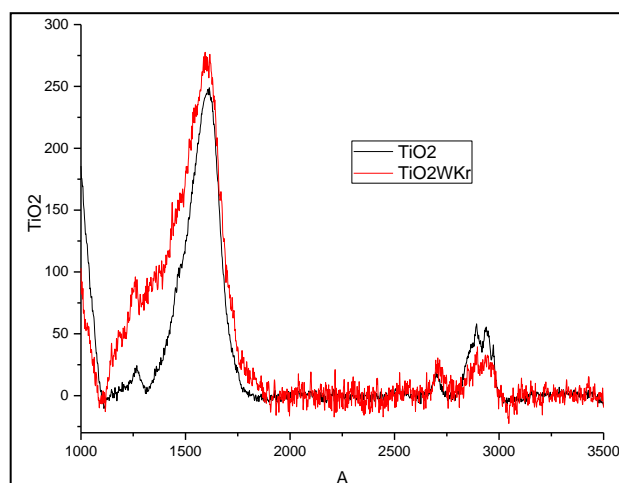


ภาพที่ 4.25 แสดงกราฟรามานสเปกตราในช่วงความเข้มของสัญญาณ 50 หน่วย ของตัวอย่างอนุภาคนาโน ZnO ก่อนการเคลือบ (กราฟสีดำ) และหลังการเคลือบด้วยเคราติน (สีแดง)

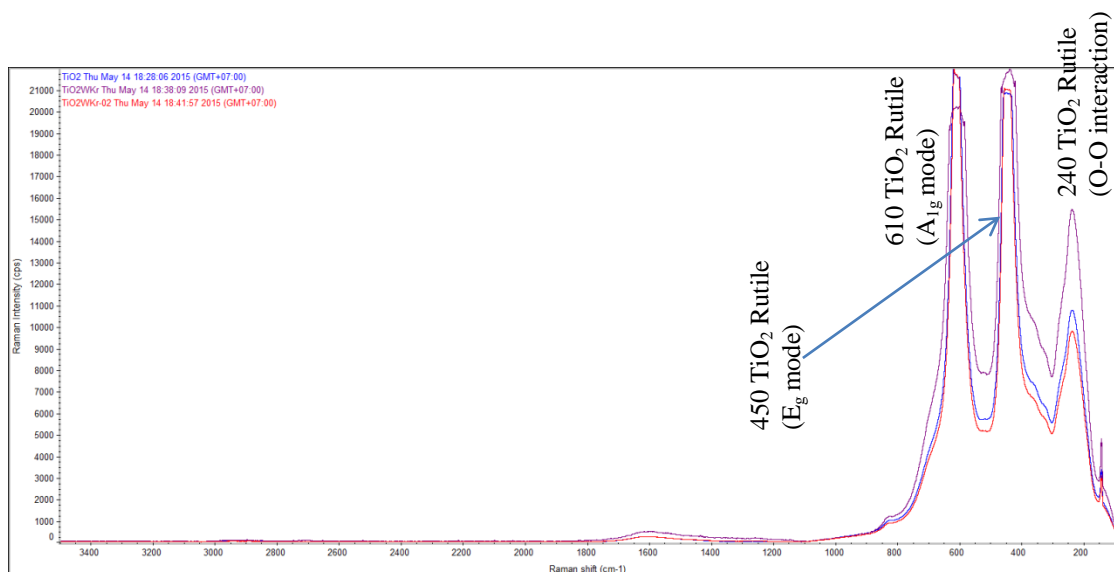


ภาพที่ 4.26 แสดงกราฟรามานสเปกตร้าของตัวอย่างอนุภาคนาโน ZnO ก่อนการเคลือบ (กราฟสีน้ำเงิน) และหลังการเคลือบด้วยเคราติน (สีแดง)

### 2.3 ผลการวิเคราะห์ด้วยการกระเจิงแบบรามานของอนุภาคไททาเนียมไดออกไซด์

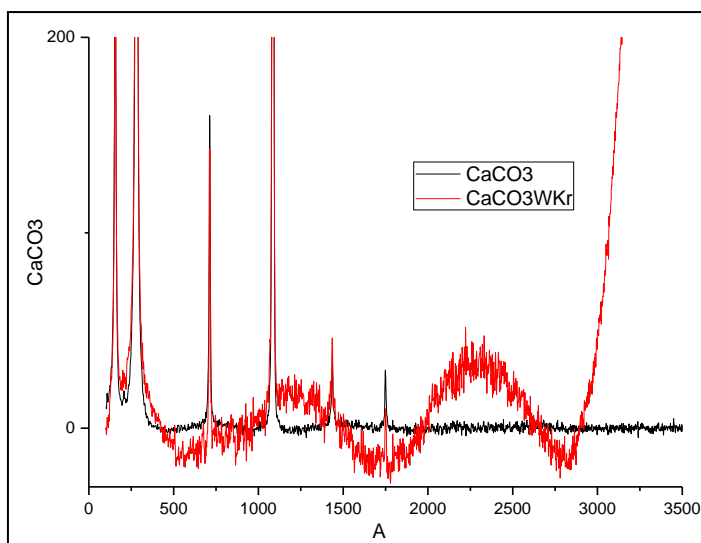


ภาพที่ 4.27 แสดงกราฟรามานสเปกตร้าในช่วงความเข้มของสัญญาณ 500 หน่วย ของตัวอย่างอนุภาคไททาเนียมไดออกไซด์ก่อนการเคลือบ (กราฟสีดำ) และหลังการเคลือบด้วยเคราติน (สีแดง)

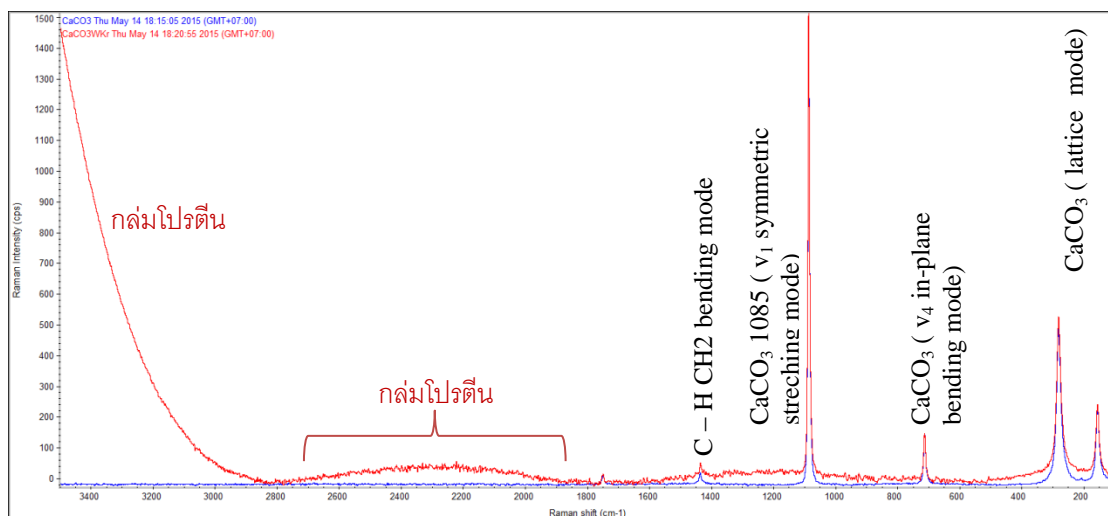


ภาพที่ 4.28 แสดงกราฟรามานสเปกตร้าของตัวอย่างอนุภาคไททาเนียมไดออกไซด์ก่อนการเคลือบ (กราฟสีน้ำเงิน) และหลังการเคลือบด้วยคราติน (สีแดงและสีม่วง)

#### 2.4 ผลการวิเคราะห์ด้วยการกระเจิงแบบรามานของอนุภาคแคลเซียมคาร์บอเนต



ภาพที่ 4.29 แสดงกราฟรามานสเปกตร้าในช่วงความเข้มของสัญญาณ 100 หน่วย ของตัวอย่างอนุภาคแคลเซียมคาร์บอเนตก่อนการเคลือบ (กราฟสีดำ) และหลังการเคลือบด้วยคราติน (สีแดง)



ภาพที่ 4.30 แสดงกราฟรามานสเปกตร้าของตัวอย่างอนุภาคแคลเซียมคาร์บอเนตก่อนการเคลือบ (กราฟสีน้ำเงิน) และหลังการเคลือบด้วยคราติน (สีแดง)

จากการทดลองวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการกระเจิงแบบรามาน เนื่องจากผลการสกัดได้ในปริมาณน้อยซึ่งไม่เพียงพอต่อการตกตะกอนเป็นผง คณะวิจัยจึงได้นำสารละลายที่สกัดได้เคลือบบนอนุภาคของโลหะออกไซด์เพื่อทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการกระเจิงแบบรามาน ซึ่งจากผลที่ได้ของรามานสเปกตร้าของตัวอย่างอนุภาคนาโน ซิงค์ออกไซด์ ไททาเนียมไดออกไซด์ และ แคลเซียมคาร์บอเนต ก่อนการเคลือบและหลังการเคลือบด้วยคราติน พบว่ามีพีคของกลุ่มโปรตีนคราตินเกิดขึ้น บริเวณเลขคลื่น  $3000$  ถึง  $3400\text{ cm}^{-1}$  และในช่วง  $1800$  ถึง  $2400\text{ cm}^{-1}$  โดยเมื่อทำการเคลือบด้วยคราติน และสัญญาณโหมดการสั่นของอนุภาควัสดุตัวอย่างอนุภาคนาโน ซิงค์ออกไซด์ อนุภาคไททาเนียมไดออกไซด์ และ แคลเซียมคาร์บอเนตที่ได้ลดลงหลังการเคลือบ แสดงว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงของผิวของอนุภาค ซิงค์ออกไซด์ ไททาเนียมไดออกไซด์ และ แคลเซียมคาร์บอเนต ซึ่งอาจเกิดจากการเคลือบคราตินที่ผิวของอนุภาคโลหะออกไซด์ และไม่พบพีคที่เกิดจากการสั่นของพันธะไดซัลไฟด์ ซึ่งจะเกิดที่ตำแหน่งเลขคลื่นที่  $500\text{ cm}^{-1}$  แสดงว่าน่าจะมีการย่อยขุ่นหนุด้วยการสลายพันธะไดซัลไฟด์ ซึ่งเป็นการย่อยเพื่อให้ได้คราติน สำหรับกลุ่มพีคที่เกิดจากโหมดการสั่นโปรตีนจะเป็นสัญญาณที่รวมกลุ่มและไม่สูงมากอาจเกิดเนื่องจากการเคลือบที่เกิดขึ้นที่บางมากและมีปริมาณน้อยมาก

## บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย

ของเสียขุ่นหมูเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมหมูหันชุมชน เป็นของเสียเหลือทิ้งเพียงอย่างเดียวของหมูที่ทั้งยังไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ ยังไม่มีวิธีการกำจัดที่เหมาะสมซึ่งก่อให้เกิดปัญหาต่อสิ่งแวดล้อม จากผลการทดลองพบว่าสามารถนำของเสียขุ่นหมูเหลือทิ้งมาสังเคราะห์เป็นเคราตินซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ไบโอพอลิเมอร์ที่มีมูลค่าสูง ซึ่งจะสามารถทำให้ลดปัญหาของเสียขุ่นหมูเหลือทิ้งต่อสิ่งแวดล้อมได้ รวมทั้งก่อให้เกิดมูลค่าเพิ่มต่อของเสียขุ่นหมูเหลือทิ้ง โดยจากการทดลองสามารถใช้เทคนิคที่สามารถขยายการผลิตได้ง่ายด้วยการสลายพันธะไดออกไซด์ โดยกระบวนการ alkaline hydrolysis ซึ่งผลที่ได้สภาวะที่เหมาะสมคือที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.5 โมลาร์ และกระบวนการที่พัฒนาใหม่คือการสกัดด้วยแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งทำการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยด้วยเทคนิคนี้คืออุณหภูมิและแรงดันบรรยากาศพบว่าที่อุณหภูมิและแรงดันบรรยากาศที่เหมาะสมจะทำให้สามารถควบคุมให้เกิดการสลายเฉพาะพันธะไดซัลไฟด์ได้โดยที่ไม่เกิดปฏิกิริยาข้างเคียงที่ไม่ต้องการหรือการทำลายพันธะเปปไทด์ โดยสภาวะที่เหมาะสมที่สามารถทำการย่อยเคราตินได้คือที่สภาวะตั้งแต่ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ที่ความดันบรรยากาศ 1,125 PSI จนถึง 120 องศาเซลเซียส ที่ความดันบรรยากาศ 1,60 PSI ซึ่งเทคนิคการใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่พัฒนาขึ้นมาใหม่นี้ เป็นเทคนิคที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมเนื่องจากแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแก๊สของเสียมลพิษที่เป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมต่าง จึงถือเป็นการใช้แก๊สของเสียจากอุตสาหกรรมให้เกิดประโยชน์และปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นผลิตภัณฑ์ที่เหลือจากปฏิกิริยาไม่มีผลิตภัณฑ์พลอยได้หรือสารที่เกิดจากปฏิกิริยาข้างเคียง หรือสารตกค้างดังเช่นการใช้ปฏิกิริยา alkaline hydrolysis โดยแก๊สที่เหลือจากปฏิกิริยาจะระเหยออกจากสารละลายเคราตินได้เองเมื่อระบบเข้าสู่แรงดันบรรยากาศห้อง

## บรรณานุกรม

### บรรณานุกรมภาษาต่างประเทศ

Aluigi, A. Zoccola, M. Vineis, C. Tonin, C. Ferrero, F. Canetti, M. (2007). Study on the structure and properties of wool keratin regenerated from formic acid, *International Journal of Biological Macromolecules*, Volume 41, Issue 3, Pages 266-273.

Bito, K. Okuno, M. Kano, H. Tokuhara, S. Naito, S. Masukawa, Y. Leproux, P. Couderc, V. and Hamaguchi, H. (2012). Protein Secondary Structure Imaging with Ultrabroadband Multiplex Coherent Anti-Stokes Raman Scattering (CARS) Microspectroscopy, *J. Phys. Chem. B*, Volume 116 (4), Pages 1452–1457.

Church, J.S. Poole, A.J. Woodhead, A.L. (2010). The Raman analysis of films cast from dissolved feather keratin, *Vibrational Spectroscopy*, Volume 53, Issue 1, Pages 107-111.

Fritz Lipmann Institute. (2012). *Protein Classification*. December, 28 2012. [http://www.imb-jena.de/~rake/Bioinformatics\\_WEB/proteins\\_classification.html](http://www.imb-jena.de/~rake/Bioinformatics_WEB/proteins_classification.html)

Jiashen, L. Li, Y. Li, L. Arthur, F.T. Mak, Ko, F. Qin, L. (2009). Preparation and biodegradation of electrospun PLLA/keratin nonwoven fibrous membrane, *Polymer Degradation and Stability*, Volume 94, Issue 10, October 2009, Pages 1800-1807.

Kuzuhara, A. (2013) Analysis of internal structure changes in black human hair keratin fibers resulting from bleaching treatments using Raman spectroscopy, *Journal of Molecular Structure*, Volume 1047, Pages 186-193.

Kuzuhara, A. Hori, T. (2003). Reduction mechanism of thioglycolic acid on keratin fibers using microspectrophotometry and FT-Raman spectroscopy, *Polymer*, Volume 44, Issue 26, Pages 7963-7970.

Kuzuhara, A. Hori, T. (2013). Analysis of heterogeneous reaction between reducing agents and keratin fibers using Raman spectroscopy and microspectrophotometry, *Journal of Molecular Structure*, Volume 1037, Pages 85-92. [molspec/uwisab1.htm](http://molspec.uwisab1.htm)

Ophardt, C. (2003). *Permanent hair wave*. December, 28 2012. <http://chemistry.elmhurst.edu/vchembook/568hairwave.html>.

Poole, A.J. Lyons, R. E. Church, J. S. (2011). Dissolving Feather Keratin Using Sodium Sulfide for Bio-Polymer Applications, *Journal of Polymers and the Environment*, Volume 19, Issue 4, Pages 995-1004.

R. Nave, (2000) Raman Scattering, December, 28 2012. <http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu/hbase/atmos/raman.html>

Rad, P. Tavanai, Z. H. Moradi, A.R. (2012). Production of feather keratin nanopowder through electrospraying, *Journal of Aerosol Science*, Volume 51, Pages 49-56.

Reusch, W. (2013). Visible and Ultraviolet Spectroscopy, December, 20 2014. <http://www2.chemistry.msu.edu/faculty/reusch/virttxtjml/spectrpy/uv-vis/spectrum.htm>

Sheffield Hallam University, UV-Vis Absorption Spectroscopy Theoretical principles, December, 20 2014. <http://teaching.shu.ac.uk/hwb/chemistry/tutorials/>

Wang, B. Yang, W. McKittrick, J. Meyers, M. A. (2016). Keratin: Structure, mechanical properties, occurrence in biological organisms, and efforts at bioinspiration, *Progress in Materials Science*, Volume 76, Pages 229-318.

Wang, S. Wang, Z. Foo, S. E. M. Tan, N. S. Yuan, Y. Lin, W. Zhang, Z. and Woei Ng, K. (2015). Culturing Fibroblasts in 3D Human Hair Keratin Hydrogels, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, Volume 7 (9), Pages 5187–5198.

Wen, W. Meng, Y. Xiao, J. Zhang, P. Zhang, H. (2013). Comparative study on keratin structural changes in onychomycosis and normal human finger nail specimens by Raman spectroscopy, *Journal of Molecular Structure*, Volume 1038, Pages 35-39.

Xu, H. Cai, S. Xu, L. and Yang, Y. (2014). Water-Stable Three-Dimensional Ultrafine Fibrous Scaffolds from Keratin for Cartilage Tissue Engineering, *Langmuir*, Pages 30 (28), Pages 8461–8470.

ภาคผนวก

**ภาคผนวก ก.**

(กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดชนิดฟิลด์อิมิสชัน)

## ภาคผนวก ก

กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดชนิดฟิลด์อิมิสชัน (Field Emission Scanning Electron Microscope : FESEM)

กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดชนิดฟิลด์อิมิสชันเป็นการวิเคราะห์โครงสร้างระดับจุลภาคของวัสดุของแข็งระดับนาโนเมตร ที่มีความสามารถแยกแยะรายละเอียด (Resolution) สูงถึง 1.5 นาโนเมตร ทั้งนี้ ขึ้นอยู่กับสภาพกรานาไฟฟ้า และสมบัติทางกายภาพของชิ้นงานตัวอย่างด้วย กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดเป็นกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนที่มีกำลังขยายไม่สูงเท่ากับเครื่อง TEM การเตรียมตัวอย่างเพื่อที่จะดูด้วยเครื่อง SEM นี้ไม่จำเป็นที่ตัวอย่างจะต้องมีขนาดบางเท่ากับเมื่อดูด้วยเครื่อง TEM เนื่องจากไม่ได้ทำการตรวจวัดอิเล็กตรอนที่มาจากการที่อิเล็กตรอนเคลื่อนที่ทะลุผ่านตัวอย่าง ซึ่งภาพที่ได้นั้นได้จากการตรวจวัดอิเล็กตรอนที่สะท้อนจากพื้นผิวหน้าของตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์ ซึ่งภาพที่ได้จากเครื่อง SEM นี้จะเป็นภาพลักษณะของ 3 มิติ ดังนั้นเครื่อง SEM จึงถูกนำมาใช้ในการศึกษาสัณฐานและรายละเอียดของลักษณะพื้นผิวของตัวอย่าง เช่น ลักษณะพื้นผิวด้านนอกของเนื้อเยื่อและเซลล์ หน้าตัดของโลหะและวัสดุ เป็นต้น ซึ่งเป็นข้อดีของเครื่อง SEM เมื่อเปรียบเทียบกับเครื่อง TEM ในขณะที่ภาพจากเครื่อง TEM จะให้ภาพลักษณะ 2 มิติ อีกทั้งวิธีการใช้งานเครื่อง SEM จะมีความรวดเร็วและใช้งานง่ายกว่าเครื่อง TEM มาก

หลักการทำงานโดยทั่วไปของเครื่อง SEM ส่วนหลักจะประกอบด้วยแหล่งกำเนิดอิเล็กตรอนซึ่งทำหน้าที่ผลิตอิเล็กตรอนเพื่อป้อนให้กับระบบ โดยที่กลุ่มอิเล็กตรอนที่ได้จากแหล่งกำเนิดจะถูกเร่งด้วยสนามไฟฟ้า จากนั้นกลุ่มอิเล็กตรอนจะผ่านเลนส์รวบรวมรังสี (condenser lens) เพื่อให้กลุ่มอิเล็กตรอนกลายเป็นลำอิเล็กตรอน ซึ่งจะสามารถปรับให้ขนาดของลำอิเล็กตรอนใหญ่หรือเล็กได้ตามต้องการ โดยหากต้องการภาพที่มีความคมชัดขึ้นจะปรับให้ลำอิเล็กตรอนมีขนาดเล็ก หลังจากนั้นลำอิเล็กตรอนจะถูกปรับระยะโฟกัสโดยเลนส์ใกล้วัตถุ (objective lens) ลงไปบนผิวชิ้นงานที่ต้องการศึกษา หลังจากลำอิเล็กตรอนถูกกราดลงบนชิ้นงานแล้วจะทำให้เกิดอิเล็กตรอนทุติยภูมิ (secondary electron) ขึ้น ซึ่งสัญญาณจากอิเล็กตรอนทุติยภูมินี้จะถูกบันทึก และแปลงไปเป็นสัญญาณทางอิเล็กทรอนิกส์

ระบบเลนส์ของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ใช้เลนส์เป็นแม่เหล็กไฟฟ้าแทนเลนส์แก้วในกล้องจุลทรรศน์ธรรมดาทั่วไป เลนส์แม่เหล็กไฟฟ้านั้นจะประกอบด้วยขดลวดพันรอบแท่งเหล็ก ซึ่งเมื่อผ่านกระแสไฟฟ้าเข้าไปจะทำให้เกิดสนามแม่เหล็กขึ้น ซึ่งจะทำให้ลำแสงอิเล็กตรอนเข้มข้นขึ้นเพื่อไปตกอยู่ที่วัตถุที่ต้องการศึกษา เลนส์ของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนนั้นประกอบด้วย เลนส์รวมแสง และเลนส์โปรเจกเตอร์ โดยโปรเจกเตอร์เลนส์นั้นมีหน้าที่ฉายภาพ จากตัวอย่างที่ต้องการศึกษาลงดีเทคเตอร์ และแปลงเป็นสัญญาณอิเล็กทรอนิกส์

แหล่งกำเนิดลำแสงอิเล็กตรอน แหล่งกำเนิดลำแสงอิเล็กตรอนที่ใช้คือ ปืนยิงอิเล็กตรอน ซึ่งมีลักษณะเป็นขดลวดตัววีทำจากทั้งสแตน อิเล็กตรอนจะถูกปล่อยออกมาหลังจากผ่านกระแสไฟฟ้าเข้าไปในขดลวด เนื่องจากอิเล็กตรอนมีขนาดที่เล็กมากและมีประจุ จึงจะต้องมีการดูอากาศออกจากตัว

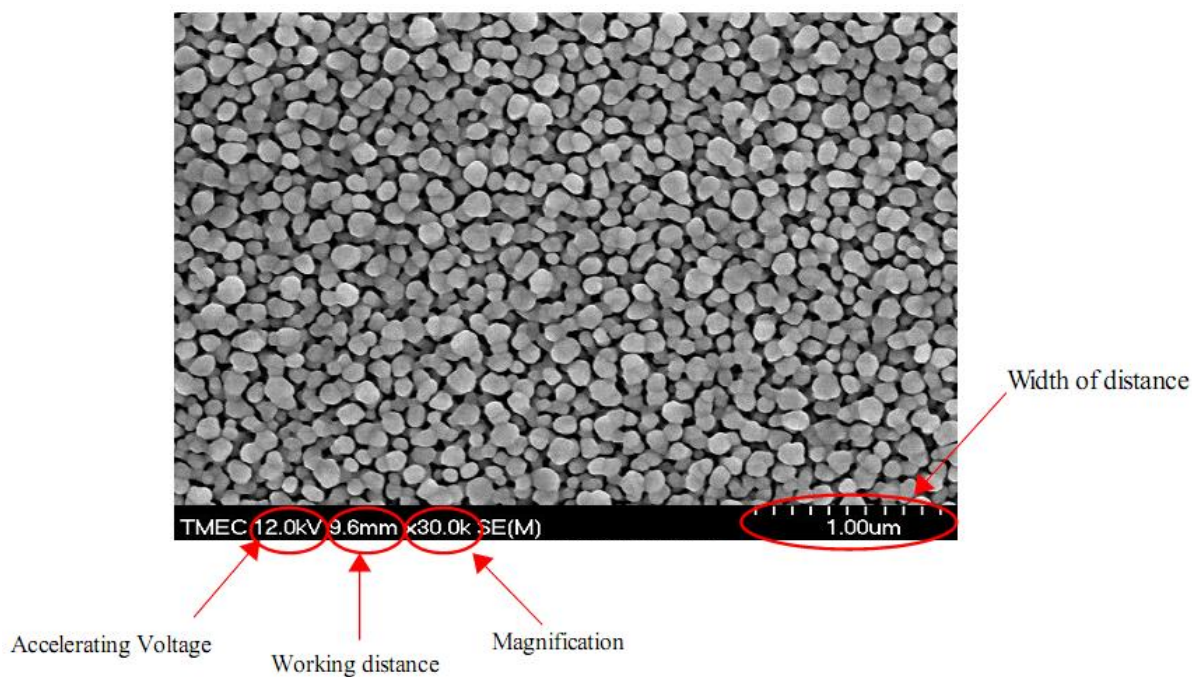
กล้องให้เป็นสุญญากาศ เพื่อป้องกันการรบกวนของลำแสงอิเล็กตรอน และเพื่อป้องกันการเกิดการหักเห เนื่องมาจากการชนกันของมวลอากาศกับลำแสงอิเล็กตรอน



ภาพที่ ก-1 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดชนิดฟิลด์อิมิสชันรุ่น FE-SEM MODEL: HITACHI – S4700 ที่ใช้ในงานวิจัยนี้

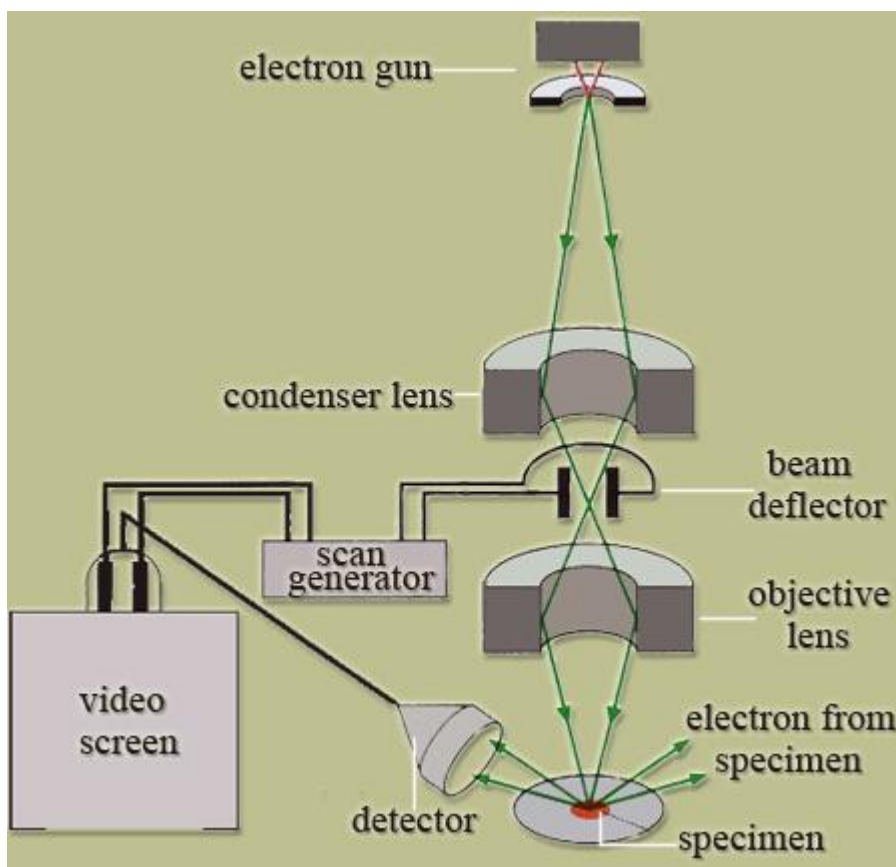
คุณสมบัติของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดชนิดฟิลด์อิมิสชันรุ่น FE-SEM MODEL: HITACHI – S4700 ที่ใช้ในงานวิจัยนี้

- Magnification 30x – 500,000x
- 2.1 nm. resolution at 1 kV.
- 1.5 nm. resolution at 15 kV.
- Sample size up to 6 inches diameter with a thickness <1cm.
- 2 secondary electron detectors at different positions for optimum surface image
- Measure the size of the structure by using CD measurement mode
- Storage image with digital file or thermal printing.



ภาพที่ ก-2 แสดงลักษณะภาพถ่ายที่ได้จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดชนิด  
ฟิลด์อิมิสชันรุ่น FE-SEM MODEL: HITACHI – S4700 ที่ใช้ในงานวิจัยนี้

การตรวจดูค่าสภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์แต่ละตัวอย่างจะสามารถตรวจดูค่าที่มีความสำคัญ  
ได้ได้รูปโดยตัวเลขต่างๆได้รูปภาพแสดงถึงค่าดังลูกศรในภาพ ซึ่งค่าขนาดในสเกลบาร์ด้านล่างขวาคือ  
ค่าของระยะทั้งหมด 10 ช่อง โดยตามตัวอย่างหมายถึงความกว้างทั้งหมด 10 ช่อง มีค่าเท่ากับ 1.00  
ไมโครเมตร ในแต่ละช่องย่อยจึงมีความกว้างเท่ากับ 0.10 ไมโครเมตร หรือ 100 นาโนเมตร เป็นต้น



ภาพที่ ก-3 ส่วนประกอบและการทำงานโดยทั่วไปของเครื่อง SEM

FESEM ยังสามารถเชื่อมต่อกับอุปกรณ์วิเคราะห์ธาตุเชิงพลังงาน (Energy Dispersive X-Ray Spectrometer ; EDS) ซึ่งช่วยในการศึกษา ชนิด ปริมาณ และการกระจายขององค์ประกอบธาตุของวัสดุที่ศึกษาได้

Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS) เป็นเทคนิคการวิเคราะห์องค์ประกอบธาตุ ตั้งแต่ โบรอนไปจนถึงยูเรเนียม ของวัสดุของแข็งในพื้นที่ระดับต่ำกว่าไมโครเมตร และยังสามารถวิเคราะห์การกระจายตัวของธาตุที่ประกอบอยู่ในชิ้นงานตัวอย่างได้ด้วย โดยสามารถแสดงเป็นแผนที่ได้ (Mapping) ความสามารถในการตรวจวัดปริมาณธาตุสามารถตรวจวัดได้ต่ำสุดถึง 0.1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (wt.%) โดยเครื่องรุ่น S-4700 ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ได้ทำการติดตั้ง EDS ยี่ห้อ Bruker AXS รุ่น Quantax 4010 เป็นการทำการตรวจวัดรังสี X-rays ที่ออกมาจากตัวอย่างซึ่งปล่อยออกมาจากตัวอย่างเนื่องจากการถูกกระตุ้นด้วยลำอิเล็กตรอน ซึ่งจะมีค่าเฉพาะของแต่ละธาตุ จึงสามารถทำให้นำมาวิเคราะห์หาธาตุที่เป็นองค์ประกอบได้

**ภาคผนวก ข.**

(กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน)

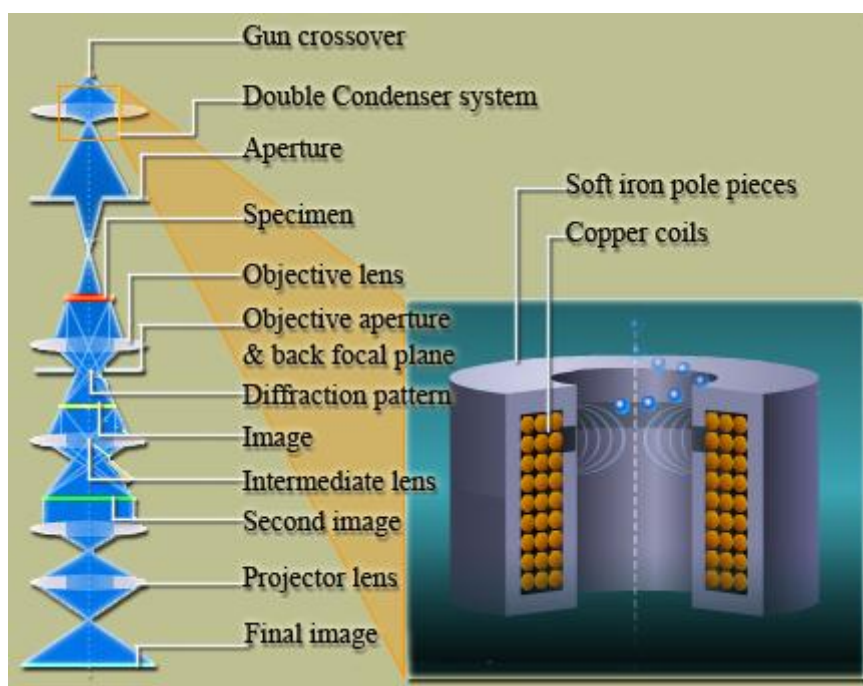
## ภาคผนวก ข

กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน transmission electron microscope (TEM) เป็นกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนที่ใช้ศึกษาตัวอย่างชนิดบาง ซึ่งเตรียมขึ้นโดยวิธีพิเศษเพื่อให้ลำอนุภาคอิเล็กตรอนผ่านทะลุได้ การสร้างภาพจากกล้องประเภทนี้จะทำได้โดยการตรวจวัดอิเล็กตรอนที่ทะลุผ่านตัวอย่าง เครื่อง TEM เหมาะสำหรับศึกษารายละเอียดขององค์ประกอบภายในของตัวอย่าง เช่น องค์ประกอบภายในเซลล์ ลักษณะของเยื่อหุ้มเซลล์ ผนังเซลล์ รวมทั้งทำให้สามารถมองเห็นโครงสร้างภายในของอนุภาคได้ เป็นต้น ซึ่งจะให้รายละเอียดสูงกว่ากล้องจุลทรรศน์ชนิดอื่นๆ เนื่องจากมีกำลังขยายและประสิทธิภาพในการแจจแจงรายละเอียดสูงมาก (โดยที่กำลังขยายสูงสุดประมาณ 0.1 นาโนเมตร)



ภาพที่ ข-1 เครื่อง TEM (Transmission Electron Microscope) ยี่ห้อ FEI รุ่น TECNAI T20 G<sup>2</sup> ที่ใช้ในงานวิจัยนี้

หลักการทำงานโดยทั่วไปของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน ส่วนประกอบหลักจะประกอบด้วยแหล่งกำเนิดอิเล็กตรอนซึ่งทำหน้าที่ผลิตอิเล็กตรอนเพื่อป้อนให้กับระบบ โดยที่กลุ่มอิเล็กตรอนที่ได้จากแหล่งกำเนิดจะถูกเร่งด้วยสนามไฟฟ้า จากนั้นกลุ่มอิเล็กตรอนจะเคลื่อนที่ผ่านเลนส์รวบรวมรังสี (condenser lens) เพื่อที่จะทำให้กลุ่มอิเล็กตรอนกลายเป็นลำอิเล็กตรอน ซึ่งสามารถปรับให้ขนาดของลำอิเล็กตรอนใหญ่หรือเล็กได้ตามต้องการ จากนั้นลำอิเล็กตรอนจะเคลื่อนที่ผ่านตัวอย่างที่จะศึกษา (specimen) ไป ซึ่งตัวอย่างที่จะศึกษาจะต้องมีลักษณะที่แบน และบางมาก (มักอยู่ในช่วงระหว่าง 1 - 100 นาโนเมตร) จากนั้นจะเกิดการกระเจิงอนุภาคขึ้นเมื่ออิเล็กตรอนทะลุผ่านตัวอย่างไป และจากนั้นอิเล็กตรอนที่ทะลุผ่านตัวอย่างไปนี้ก็จะถูกปรับโฟกัสของภาพโดยเลนส์ใกล้วัตถุ (objectivir lens) ซึ่งเป็นเลนส์ที่ทำหน้าที่ขยายภาพให้ได้รายละเอียดมากที่สุด จากนั้นจะได้รับการขยายด้วยเลนส์ไปสู่ออร์บ (projector lens) และปรับโฟกัสของลำอนุภาคอิเล็กตรอนให้ยาวพอดีที่จะปรากฏบนฉากเรืองแสง สุดท้ายจะเกิดการสร้างภาพขึ้นมาได้

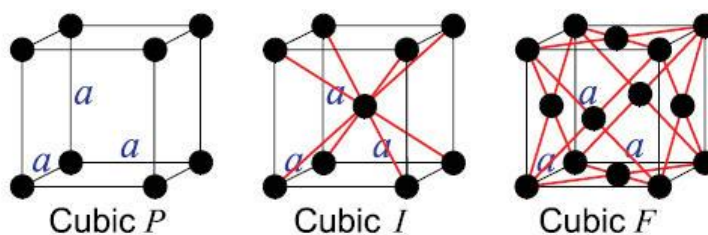


ภาพที่ ข-2 ส่วนประกอบและการทำงานโดยทั่วไปของเครื่อง TEM

**ภาคผนวก ค.**  
(เครื่องวิเคราะห์การเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์)

### ภาคผนวก ค

เครื่องวิเคราะห์การเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ หรือ X-ray Diffractometer (XRD) เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์สมบัติของวัสดุ โดยอาศัยหลักการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ที่ตกกระทบหน้าผลึก ของสารตัวอย่างที่มุมต่างๆกัน ผลการวิเคราะห์ที่ได้จะถูกนำไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลมาตรฐาน เพื่อระบุวิถุภาคและองค์ประกอบของสารตัวอย่าง เป็นการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ที่ไม่ทำลายสารตัวอย่าง (Non-destructive method) โดยสามารถทำการวิเคราะห์ได้ทั้งสารประกอบที่มีอยู่ในสารตัวอย่าง และนำมาใช้ศึกษารายละเอียดเกี่ยวกับโครงสร้างผลึกของสารตัวอย่างได้อีกด้วย ในผลึกของตัวอย่างแต่ละชนิด จะมีขนาดของ Unit Cell ที่ไม่เท่ากัน ทำให้ Pattern ของการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ ที่ออกมาไม่เท่ากัน ทำให้เราสามารถหาความสัมพันธ์ของสารประกอบต่างๆ กับ Pattern การเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ได้ ซึ่งจะช่วยให้เราทราบว่า ในตัวอย่างนั้นๆ มีสารประกอบอะไรบ้าง



ภาพที่ ค-1 ตัวอย่างการจัดโครงสร้างของผลึกแบบต่างๆ

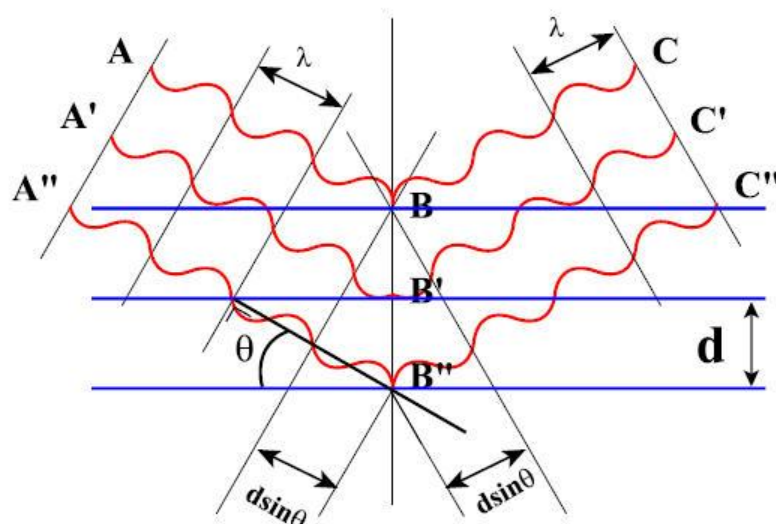
นอกจากนี้ ผลการวิเคราะห์ของ XRD จะสามารถหาลักษณะขององค์ประกอบของตัวอย่างได้แล้วนั้น ยังสามารถคำนวณหาปริมาณขององค์ประกอบต่างๆที่อยู่ในตัวอย่าง คำนวณหาขนาดอนุภาคของแต่ละ Unit cell ความเครียดของตัวอย่าง ค่าความเป็นผลึกของตัวอย่างได้อีกด้วย นอกจากนี้ ยังสามารถทำการวิเคราะห์ องค์ประกอบของฟิล์มบาง และคำนวณค่าความหนาของชั้นฟิล์มบาง ได้อีกด้วย

#### หลักการและวิธีการวิเคราะห์

จากวัสดุที่เป็นผลึกคือวัสดุที่มีการจัดเรียงตัวของอะตอมภายในโครงสร้างอย่างเป็นระเบียบ ซึ่งการจัดเรียงตัวของอะตอมภายในผลึกจะมีลักษณะเป็นระนาบเส้นตรงขนานกัน ซึ่งแต่ละระนาบจะอยู่ห่างกันเป็นระยะ  $d$  ดังแสดงในรูปที่ ค.2 ซึ่งค่าระยะห่าง  $d$  จะมีค่าแตกต่างกันไปขึ้นกับธรรมชาติของผลึก การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคนี้อาศัยหลักการของ Bragg's law หรือ  $2d \sin \Theta = n\lambda$  ในการคำนวณค่าการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ ที่ยิงผ่านชั้นผลึกที่อยู่ในตัวอย่างที่เกิดจากการเลี้ยวเบนในการให้รังสีแก่ตัวอย่างที่มุมต่างๆ

$$\sin \theta = \frac{n\lambda}{2d}$$

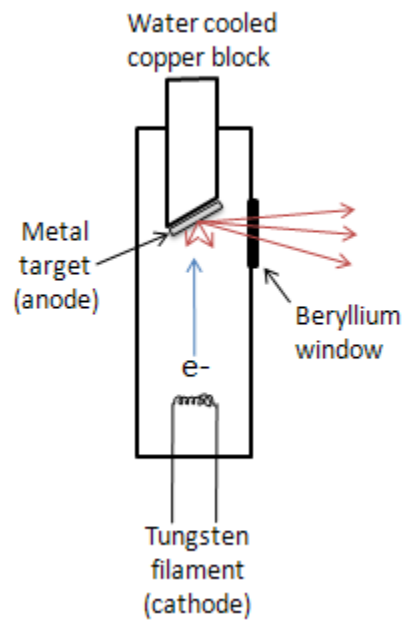
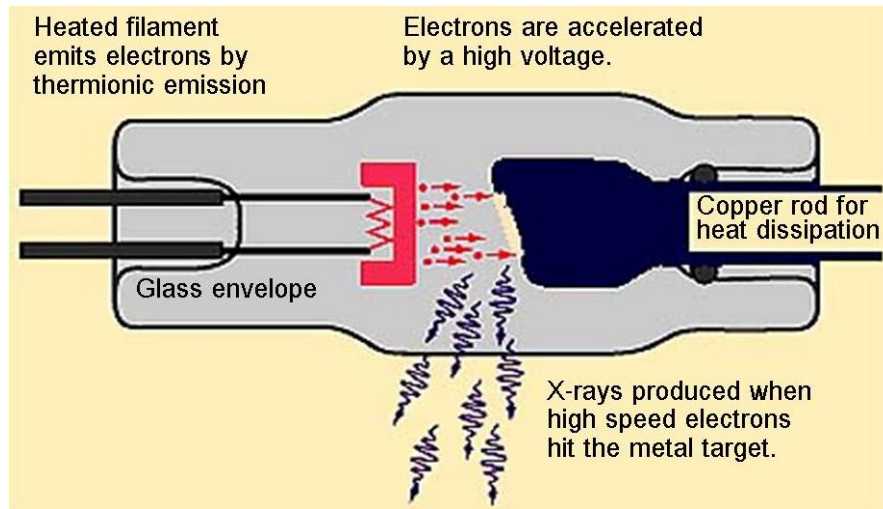
สมการ " Bragg 's Law "



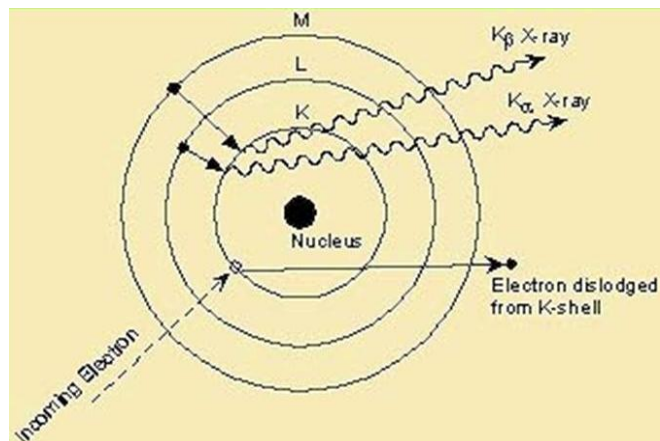
ภาพที่ ค-2 Bragg 's Law

จากที่รูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์ของวัสดุที่เป็นผลึกจะมีลักษณะแตกต่างกันขึ้นกับการจัดเรียงตัวของอะตอมภายในผลึก ดังนั้นรูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์ จึงสามารถใช้เป็นตัวชี้บ่งได้ว่าสารตัวอย่างนั้น ประกอบด้วยวัสดุที่เป็นผลึกชนิดใดบ้าง และความเข้มของพีกของการเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์จะเป็นค่าที่แปรผันตาม ปริมาณของวัสดุที่เป็นผลึกภายในสารตัวอย่าง ดังนั้นจึงสามารถใช้ค่าความเข้มของพีกคำนวณหาปริมาณขององค์ประกอบต่างๆในสารตัวอย่างได้ ส่วนความกว้างของพีกของการเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์เป็นผลเนื่องมาจากเครื่องมือและลักษณะทางกายภาพของสารตัวอย่าง ได้แก่ ความเครียดจุลภาค ข้อบกพร่องของโครงสร้างผลึก และขนาดของตัวอย่าง ดังนั้นจึงสามารถคำนวณหา ขนาดผลึกและความเครียดจุลภาคจากความกว้างของพีกการเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์ได้

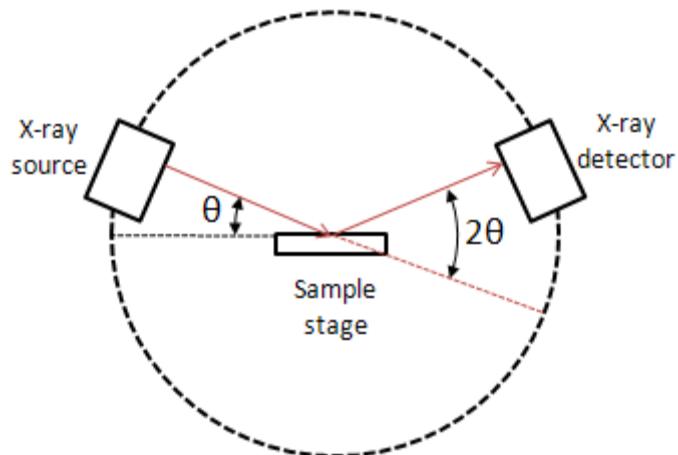
ภายในเครื่องวิเคราะห์การเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์ รังสีเอ็กซ์จะถูกสร้างขึ้นภายในหลอดปิดซึ่งอยู่ภายใต้สภาวะสุญญากาศ โดยให้กระแสไฟฟ้าแก่เส้นลวดฟิลาเมนต์ (Filament) ที่อยู่ในหลอดกำเนิดรังสีเอ็กซ์ซึ่งจะทำให้เส้นลวดร้อนขึ้นและก่อให้เกิดการปลดปล่อยอิเล็กตรอนออกจากเส้นลวด อิเล็กตรอนเหล่านี้จะถูกเร่งด้วยความต่างศักย์สูง ทำให้อิเล็กตรอนเคลื่อนที่เส้นลวดฟิลาเมนต์ที่เป็นขั้วแคโทดด้วยความเร็วสูงเข้าชนขั้วแอโนด ซึ่งโดยทั่วไปทำจากโลหะทองแดง อิเล็กตรอนที่พุ่งเข้าชนจะทำให้วงในสุด (K-shell) ของอะตอมทองแดงหลุดออกไปจึงเกิดเป็นช่องว่างขึ้น เป็นผลให้อิเล็กตรอนวงนอกที่อยู่ถัดมา (L- และ M-shell) เกิดการเปลี่ยนระดับพลังงานลงมาแทนที่ช่องว่างนั้น โดยการคายรังสีเอ็กซ์ออกมาดังแสดงในรูปที่ 3 รังสีเอ็กซ์ที่คายออกมาจะผ่านออกจากหลอดกำเนิดรังสีเอ็กซ์ไปยังสารตัวอย่าง และรังสีเอ็กซ์ที่เลี้ยวเบนออกจากสารตัวอย่างจะถูกตรวจจับด้วย อุปกรณ์ตรวจจับรังสีเอ็กซ์ ( detector )



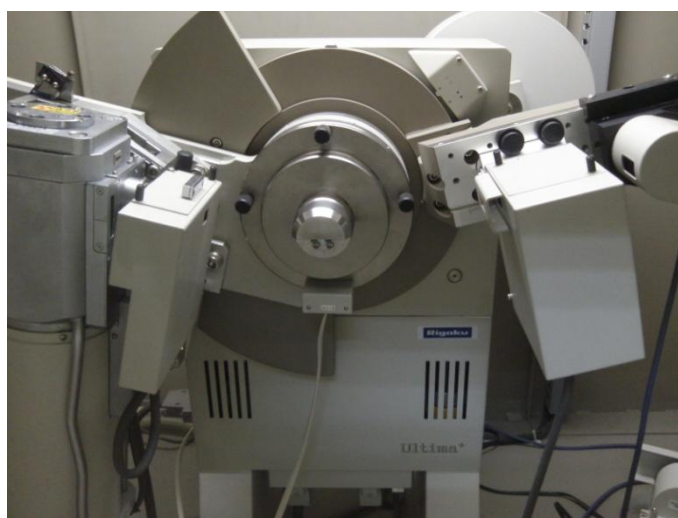
ภาพที่ ค-3 ส่วนประกอบโดยทั่วไปของหลอดรังสีเอ็กซ์



ภาพที่ ค-4 แสดงการเกิดรังสีเอ็กซ์ที่โลหะเป้าหมายเมื่อยิงด้วยอิเล็กตรอน



ภาพที่ ค-5 แสดงไออะแกรมของเครื่อง XRD โดยจะมีแกนหมุนสำหรับยิงรังสีไปที่ตัวอย่างที่อยู่ตรงกลางและดีเทคเตอร์อยู่ด้านตรงกันข้ามสำหรับตรวจวัดสัญญาณที่ได้จากตัวอย่างที่ทำมุมต่อกัน



ภาพที่ ค-6 แสดงส่วนประกอบภายในของเครื่อง XRD ที่ใช้ในการทดลองนี้

ลักษณะตัวอย่างที่เหมาะสมในการส่งเพื่อทดสอบ

เครื่อง XRD สามารถทำการวิเคราะห์ตัวอย่างได้ทั้งในรูปแบบของแข็ง หรือตัวอย่างที่เป็น powder ได้ ในกรณีที่ตัวอย่างเป็นของแข็งด้านที่ต้องการทดสอบจะต้องมีผิวเรียบ และส่วนในกรณีตัวอย่างที่เป็นผง จะต้องมีความละเอียดน้อยกว่า 325 mesh หรือ ประมาณ 40 micron (ผงละเอียดคล้ายผงแป้ง) จึงจะให้ผลการทดสอบที่ดี โดยปริมาณที่ต้องใช้ในการทดสอบต่อครั้งจะใช้ประมาณ 1 ถึง 2 กรัม

ในกรณีที่ตัวอย่างเป็นก้อน ต้องมีขนาดมิติกว้างยาว ไม่เกิน 10 เซนติเมตร ทั้งนี้ เนื่องจากพื้นที่ที่จะทำการวิเคราะห์จะเป็นเพียงบริเวณเล็กๆ ประมาณ 10 เซนติเมตร เท่านั้น ในกรณีที่ต้องการทดสอบ ThinFilm เพื่อหาความหนาของชั้นฟิล์ม ความหนาของฟิล์มที่เตรียมต้องอยู่ระหว่าง

10 nm – 100 nm ถ้าต่ำกว่า 10 nm ผลการทดสอบจะมีความคลาดเคลื่อนมาก และหากหนาเกิน 100 nm จะไม่สามารถคำนวณความหนาได้



ภาพที่ ค-7 แสดงเครื่อง XRD ที่ใช้ในการทดลองนี้

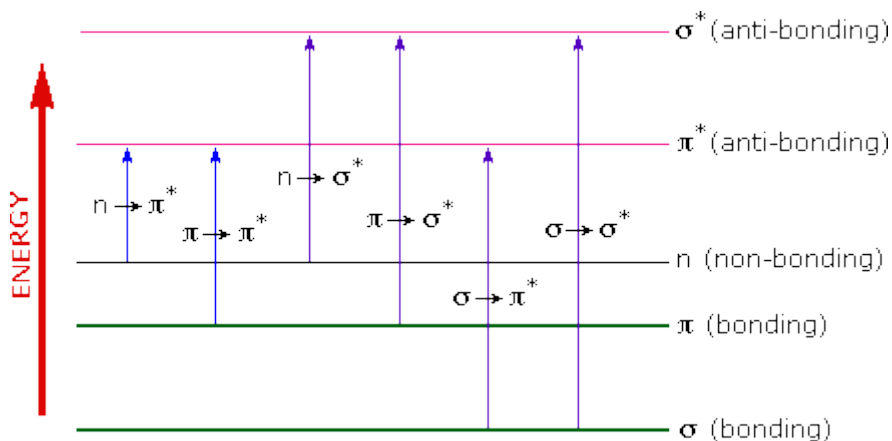
**ภาคผนวก ง.**  
(ยูวี-วิธีเปิดสเปกโทรสโกปี)

## ภาคผนวก ง.

ยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี (UV/VIS Spectroscopy) เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณแสงและค่า intensity ในช่วงรังสียูวี หรือ Ultra violet (UV) และช่วงแสงที่ตามองเห็น หรือ Visible (VIS) ที่ทะลุผ่านหรือถูกดูดกลืนโดยตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์ มีความยาวคลื่นอยู่ในช่วงประมาณ 190-1000 nm โดยที่ความยาวคลื่นแสงจะมี ความสัมพันธ์กับปริมาณและชนิดของสารที่อยู่ในสารละลายตัวอย่าง เนื่องจากสารแต่ละชนิดจะดูดกลืนรังสีในช่วงความยาวคลื่นที่แตกต่างกันซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นสารอินทรีย์ สารประกอบเชิงซ้อนและสารอนินทรีย์ที่สามารถดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นเหล่านี้ได้ คุณสมบัติในการดูดกลืนแสงของสารเมื่อโมเลกุลของตัวอย่างถูกฉายด้วยแสงในช่วงรังสียูวีหรือแสงขาวที่มีพลังงานเหมาะสมจะทำให้อิเล็กตรอนภายในอะตอมเกิดการดูดกลืนแสงแล้วเปลี่ยนสถานะไปอยู่ในชั้นระดับพลังงานสูงกว่าเมื่อทำการวัดปริมาณของแสงที่ผ่านออกมาจากตัวอย่างเทียบกับแสงจากแหล่งกำเนิดที่มีความยาวคลื่นค่าต่างๆ ตามกฎของ Beer – Lambert ค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ของสารจะแปรผัน กับจำนวนโมเลกุลที่มีการดูดกลืนแสง ซึ่งขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารนั้น การดูดกลืนแสงของสารต่างๆจึงเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสาร ดังนั้นจึงสามารถเทคนิคนี้ในการวิเคราะห์ได้ทั้งในเชิงคุณภาพและปริมาณ เทคนิคนี้เป็นเทคนิคที่ให้สภาพไวที่ดี และใช้กันอย่างแพร่หลาย ผลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคนี้แสดงในรูปความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) และค่าความยาวคลื่น (Wavelength) ซึ่งเรียกว่า Spectrum

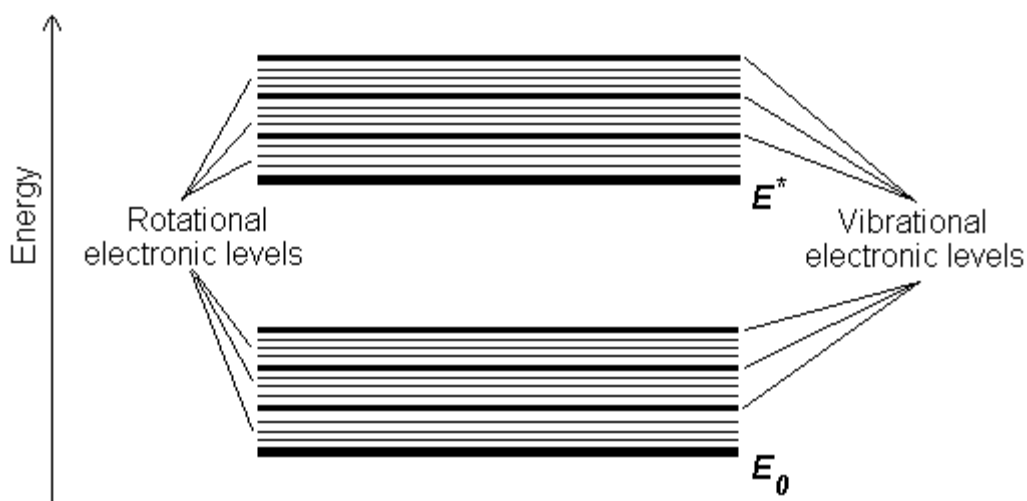
การดูดกลืนแสงของโมเลกุลที่สามารถวิเคราะห์ด้วยเทคนิค UV สเปกโตรสโกปี เป็นการเปลี่ยนสถานะของอิเล็กตรอน (Electronic transitions) ภายในโมเลกุล ยานของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า (Electromagnetic radiation) ที่ใช้พลังงานสำหรับการเปลี่ยนแปลงสถานะของอิเล็กตรอน ที่อยู่ในช่วงความยาวคลื่นประมาณ 200 - 800 นาโนเมตร (nm) อิเล็กตรอนที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนสถานะมี 2 ประเภทคือ (1) อิเล็กตรอนที่สร้างพันธะ (bonding electrons) และ (2) อิเล็กตรอนที่ไม่ได้สร้างพันธะ (non-bonding) ซึ่งได้แก่ อิเล็กตรอนคู่โดด (unpair electrons) ของออกซิเจน ไนโตรเจน ฮาโลเจนและซัลเฟอร์ เป็นต้น

การเปลี่ยนสถานะของอิเล็กตรอนที่เกิดในสารประกอบอินทรีย์ที่สำคัญสำหรับเทคนิคนี้มี 4 แบบคือ  $\sigma \rightarrow \sigma^*$ ,  $n \rightarrow \sigma^*$ ,  $\pi \rightarrow \pi^*$  และ  $n \rightarrow \pi^*$  การเปลี่ยนสถานะเหล่านี้ใช้พลังงานแตกต่างกัน สำหรับการเปลี่ยนสถานะ  $\sigma \rightarrow \sigma^*$  ซึ่งเกิดในสารประกอบอิมตัวใช้พลังงานมากที่สุดและเกิดที่ความยาวคลื่นต่ำกว่า 200 nm การบันทึกสเปกตรัมของสาร ในย่านต่ำกว่า 200 nm จะทำได้ยากเนื่องจากออกซิเจนสามารถดูดกลืนรังสีในย่านนี้ UV-VIS สเปกโตรมิเตอร์ทั่วไปจึงไม่สามารถตรวจวัดได้ ทำให้การเปลี่ยนสถานะ  $\sigma \rightarrow \sigma^*$  ไม่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ สำหรับโหมดการเปลี่ยนสถานะ  $n \rightarrow \sigma^*$  เกิดในสารประกอบอิมตัวที่มีออกซิเจน ไนโตรเจน และซัลเฟอร์ในโมเลกุล การเปลี่ยนสถานะ  $\pi \rightarrow \pi^*$  เกิดในสารประกอบที่มีพันธะคู่ พันธะสามและอะโรเมติก การเปลี่ยนสถานะทั้ง สามแบบที่กล่าวมานี้เป็นแบบ allowed transition ส่วนการเปลี่ยนสถานะ  $n \rightarrow \pi^*$  ซึ่งเกิดในสารประกอบกลุ่มคาร์บอนิลเป็นแบบ forbidden transition



ภาพที่ ง-1 แผนภาพแสดงการโหมตการเปลี่ยนระดับพลังงานของอิเล็กตรอน

นอกจากนั้นแล้วโมเลกุลสามารถเกิดการดูดกลืนแสงจากการเปลี่ยนระดับสถานะพลังงานของอิเล็กตรอนจากกลไกอื่นอีก เช่น จากเกิด charge-transfer electrons และ โมเลกุลที่สามารถเกิดการหมุนหรือการสั่นของพันธะ จะสามารถมีระดับพลังงานงานในโหมตการหมุนหรือการสั่นของพันธะ ซึ่งสามารถดูดกลืนรังสียูวีและวิสิเบิลได้เช่นกัน



ภาพที่ ง-2 แผนภาพแสดงการแยกระดับพลังงานของอิเล็กตรอน ในโหมตการหมุนและการสั่นของพันธะ

ส่วนประกอบที่สำคัญของเครื่อง UV-VIS spectrophotometer ประกอบไปด้วย

Light source แหล่งกำเนิดรังสีเป็นส่วนที่ให้รังสีในช่วงความยาวคลื่นที่ต้องการออกมาอย่างต่อเนื่องและคงที่ รวมทั้งมีความเข้มแสงที่มากพอ หลอดกำเนิดรังสีมีหลายชนิดตามความยาวคลื่นรังสีที่เปล่งออกมา เช่น ช่วง UV จะใช้หลอด H<sub>2</sub> หรือ D<sub>2</sub> lamp ให้ความยาวคลื่นอยู่ในย่าน 160-380 นาโนเมตร และสำหรับแสงในช่วง Visible ใช้หลอด Tungsten/halogen ซึ่งให้แสงความยาวคลื่นในช่วง 240-2,500 นาโนเมตร เป็นต้น

Monochromator เป็นส่วนที่ใช้ควบคุมเลือกความยาวคลื่นแสง โดยจะทำให้แสงที่ออกมาจากต้นกำเนิดแสง ซึ่งเป็นพอลิโครเมติก ให้เป็นแสงโมนโครเมติก ซึ่งเป็นแถบแสงแคบๆ หรือมีความยาวคลื่นเดียว ใช้ฟิลเตอร์ปริซึมหรือ เกรตติ้ง

Cell sample เซลล์ที่ใช้บรรจุสารละลายตัวอย่าง บางครั้งอาจเรียกว่า Cuvettes ที่ใช้กันทั่วไปได้แก่เซลล์ที่ทำด้วยแก้วจะใช้ได้เฉพาะช่วงวิสิเบิล เพราะแก้วจะดูดกลืนรังสีในช่วงยูวีได้ และสำหรับเซลล์ที่ทำด้วยควอร์ตซ์ จะสามารถใช้ได้ทั้งช่วงยูวีและวิสิเบิล

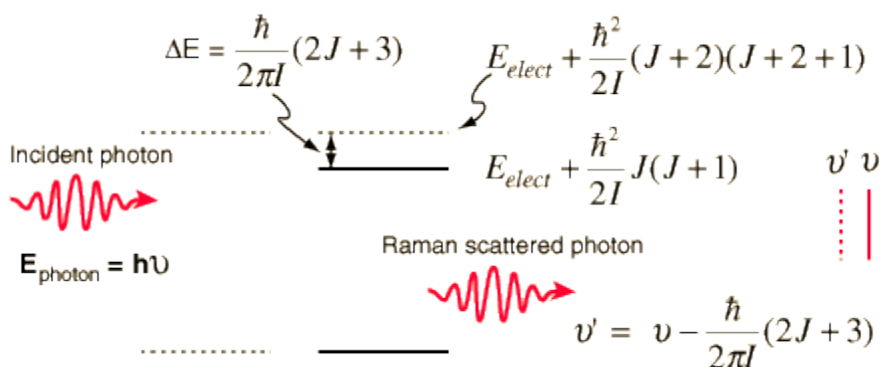
Detector ทำหน้าที่ในการวัดความเข้มของรังสีที่ผ่านออกมาจากการถูกดูดกลืน โดยการแปลงพลังงานคลื่นรังสีเป็นพลังงานไฟฟ้า เครื่องวัดรังสีมีหลายชนิดที่นิยม ได้แก่ Photomultiplier tube และเครื่องวัดแสงชนิดซิลิกอนไดโอด Silicon diode detector เป็นต้น

เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ใช้โดยทั่วไปแบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ เครื่องชนิด Single-Beam spectrophotometer และ Double-Beam spectrophotometer เครื่องชนิด Single-Beam spectrophotometer นั้นเมื่อลำรังสีออกจากแหล่งกำเนิดรังสีจะผ่านเลนส์ โมนโครเมเตอร์ที่เป็น Grating ผ่านสารตัวอย่าง แล้วจึงเข้าสู่อุปกรณ์ตรวจจับ สัญญาณ เนื่องจาก สเปคโตรโฟโตมิเตอร์ประเภทนี้ใช้ลำรังสีเพียงลำเดียวผ่านจากโมนโครเมเตอร์ไปสู่สารละลายที่ต้องการวัดลำรังสีนี้จะเข้าสู่อุปกรณ์ตรวจจับสัญญาณเลย การวัดแต่ละครั้งจึงต้องใช้เซลล์ 2 เซลล์ให้ลำรังสีผ่านสลับกัน สำหรับเครื่องชนิด Double-Beam Spectrophotometer นั้น ลำรังสีจะผ่านโมนโครเมเตอร์ 2 ครั้งด้วยกัน ทำให้ได้ลำรังสีความยาวคลื่นเดียวอย่างมีประสิทธิภาพและความละเอียดมากขึ้น เมื่อออกจาก Exit slit แล้ว ลำรังสีจะเข้าสู่อุปกรณ์ตัดลำรังสี (Beam chopper) ก็จะสะท้อนไปผ่านสารตัวอย่าง ในขณะที่เดียวกันลำรังสีจะผ่านไปผ่านสารอ้างอิง ด้วยวิธีนี้ ลำรังสีลำเดียวที่ผ่านโมนโครเมเตอร์จะถูกอุปกรณ์ตัดลำรังสีแยกออกเป็นลำรังสีสองลำที่มีความเข้มเท่ากันตลอดเวลา เมื่อลำรังสีทั้งสองนี้ไปตกกระทบ phototube ความแตกต่างของความเข้มจะกลายเป็นสัญญาณส่งต่อไปยังอุปกรณ์บันทึกสัญญาณต่อไปในการใช้สเปคโตรโฟโตมิเตอร์แบบลำรังสีคู่

**ภาคผนวก จ.**  
(เทคนิครามานสเปคโตรสโคปี)

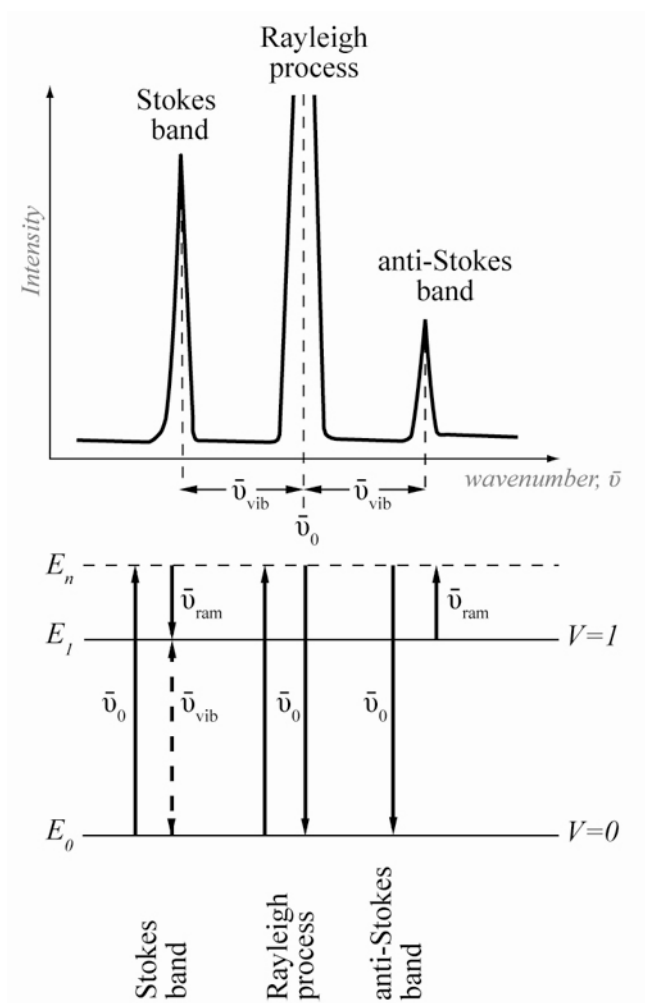
### ภาคผนวก จ.

เทคนิค Raman Spectroscopy เป็นเทคนิคที่ใช้ในการระบุชนิดของสารและใช้ในการวิเคราะห์โมเลกุลของสาร โดยเทคนิคนี้จะให้ข้อมูลที่คล้ายกับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Infrared Spectroscopy แต่จะมีข้อดีที่ได้เปรียบที่สำคัญกว่าคือ ไม่จำเป็นต้องมีการเตรียมตัวอย่างที่ยุ่งยาก และบางครั้งก็สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้เลยโดยไม่ต้องผ่านการเตรียมตัวอย่าง เช่นวิเคราะห์สารที่อยู่ในภาชนะหรือบรรจุภัณฑ์ที่มีลักษณะใสได้แก่แก้วหรือพลาสติก หรือแม้กระทั่งสารละลายที่อยู่ในน้ำ การเกิด Raman scattering สามารถพิจารณาโดยใช้ quantum theory of radiation โดยเมื่อพิจารณาการชนระหว่างคลื่นแสงความยาวคลื่นเดียวกับโมเลกุล อาจเกิดการชนได้ 2 แบบ คือ การชนแบบยืดหยุ่น (Elastic collision) และการชนแบบไม่ยืดหยุ่น (Inelastic collision) การชนแบบยืดหยุ่น (Elastic collision) เป็นการชนแบบไม่มีการสูญเสียพลังงาน คลื่นแสงที่กระเจิงหลังจากการชนจะมีพลังงานเท่ากับคลื่นแสงที่ตกกระทบ เรียกว่า Rayleigh scattering สำหรับการชนแบบไม่ยืดหยุ่น (Inelastic collision) เป็นการชนที่มีการสูญเสียพลังงาน มีการเปลี่ยนแปลงพลังงานเกิดขึ้น ซึ่งคลื่นแสงที่มีการกระเจิงหลังการชนอาจมีพลังงานสูงกว่าหรือต่ำกว่าคลื่นแสงที่ตกกระทบ เรียกว่า Raman scattering



ภาพที่ จ-1 แผนภาพแสดงสมการของระดับพลังงานของอิเล็กตรอนและพลังงานของแสงก่อนชนและหลังชน

แสงที่กระเจิงที่มีพลังงานสูงหรือต่ำกว่าคลื่นแสงที่ตกกระทบนั้น เกิดจากปฏิกิริยาร่วมระหว่างโฟตอนกับโมเลกุลของสาร เส้นสเปกตรัมของพลังงานที่ได้ออกมาจะเรียกชื่อต่างกัน ตามพลังงานที่ต่างกัน โดย ถ้าโฟตอนให้พลังงานแก่โมเลกุลทำให้คลื่นแสงมีความถี่ลดลง และได้เส้นสเปกตรัมที่มีความถี่ต่ำกว่าความถี่คลื่นของแสงตกกระทบ เรียกเส้นสเปกตรัมนี้ว่า “เส้นสโตกส์ (Stokes lines)” ถ้าโฟตอนได้รับพลังงานจากโมเลกุลจะทำให้คลื่นแสงมีความถี่เพิ่มขึ้น จะได้เส้นสเปกตรัมที่มีความถี่สูงกว่าความถี่ของคลื่นที่ตกกระทบ เรียกเส้นสเปกตรัมนี้ว่า “เส้นแอนติสโตกส์ (Anti-Stokes lines)” และถ้าเส้นสเปกตรัมที่ได้หลังการกระเจิงมีความถี่ของคลื่นแสงเท่ากับความถี่ของคลื่นแสงที่ตกกระทบเรียกเส้นสเปกตรัมนี้ว่า “เส้นเรย์ลี (Rayleigh lines)”



ภาพที่ จ-2 แผนภาพแสดงการเปลี่ยนระดับพลังงานแบบ Stokes และ anti-Stokes scattering ในรูปของสัญญาณที่วัดได้

ซึ่งแสงที่เกิด Stoke radiation และ Anti-Stoke radiation นั้นจะสอดคล้องกับระดับพลังงานของการสั่นของโมเลกุลสาร สเปกตรัมในช่วง Stoke radiation จะมีความเข้มสูงซึ่งเป็นช่วงที่สนใจนำมาใช้ในการวิเคราะห์ ส่วนสเปกตรัมของ Anti-Stoke radiation นั้นจะไม่ได้ให้ข้อมูลใหม่ ๆ ที่สำคัญมากนักเราจึงไม่สนใจสเปกตรัมในช่วงนี้ เช่นเดียวกับกับ Infrared Spectroscopy สารแต่ละตัวจะให้ข้อมูลสเปกตรัมเฉพาะสารซึ่งสามารถใช้ระบุชนิดของสารได้หรือที่เรียกว่า finger print โดยการสั่นของพันธะที่จะสามารถตรวจวัดด้วยเทคนิคนี้จะต้องเกิดการ polarize ของแสงได้ ซึ่งสารที่มีพันธะแบบสมมาตรพวก symmetric bond ได้แก่ C=C, S=S หรือสาร aromatic จะให้ peak ที่ชัดเจน

**ภาคผนวก ฉ.**

(ภาพตัวอย่างแสดงลักษณะและสีของการย่อยเคราตินจากขนหมูด้วยสภาวะต่างๆ)

### ภาคผนวก ฉ

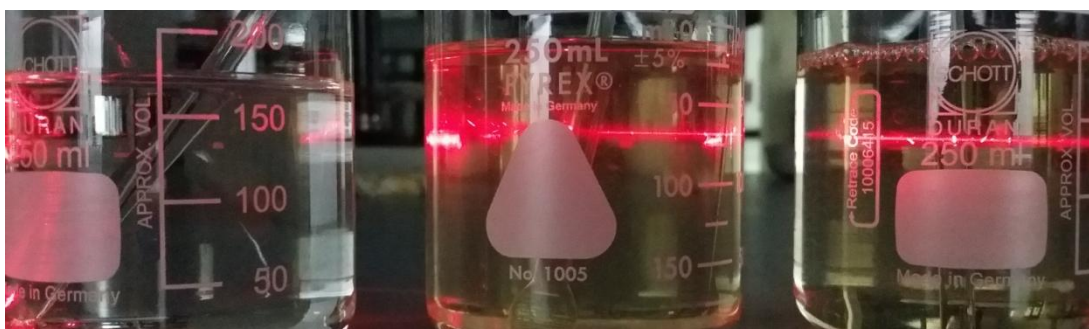
ภาพตัวอย่างแสดงลักษณะและสีของการย่อยเคราตินจากขนหมูด้วยสภาวะต่างๆ



ตัวอย่างภาพปริตักชั้นที่เวลา 3 ชั่วโมง ขนหมู 25 mg ในสารละลาย 0.5M โซเดียมไฮดรอกไซด์ , ขนหมู 250 mg ในสารละลาย 0.5M โซเดียมไฮดรอกไซด์, และขนหมู 250 mg ในสารละลาย 1.0M โซเดียมไฮดรอกไซด์ ตามลำดับ



ตัวอย่างภาพปริตักชั้นที่เวลา 6 ชั่วโมง ขนหมู 25 mg ในสารละลาย 0.5M โซเดียมไฮดรอกไซด์ และขนหมู 250 mg ในสารละลาย 1.0M โซเดียมไฮดรอกไซด์ ตามลำดับ ซึ่งมองด้วยตาพบว่าเกิดการละลายหมด



เมื่อทดสอบพบว่าตัวอย่างขนหมูยังไม่ทำปฏิกิริยาจนหมด เหลืออนุภาคแขวนลอยขนาดเล็ก

## ประวัติผู้วิจัย

นายวีรชน ภูหินกอง เกิดวันที่ 9 พฤศจิกายน 2521 ที่จังหวัดร้อยเอ็ด ตำแหน่งปัจจุบัน  
นักวิจัย ประจำคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

E-mail: p\_veerachon@hotmail.com

ประวัติการศึกษา

ศษ.บ. สาขาวิทยาศาสตร์ (เคมี) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วท.ม. เคมี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา)

Electronics, Nanomaterials, Analytical chemistry, Electrochemistry, Biosensors

### ผลงานทางวิชาการที่ตีพิมพ์เผยแพร่/งานวิจัยที่นำเสนอในที่ประชุมวิชาการระดับนานาชาติ

2010 Screen-printed electrode modified with nano-ZnO dispersed in polyaniline nanowires for hydrogen peroxide biosensor, Pure and Applied Chemistry International Conference (PACCON2010), January 20-23, 2010, Ubonratchathani University, Ubonratchathani, Thailand

Weerachon Phoochinkong, Thitinat Sukonket , Udomsak Kitthawee, A facile synthesis of ZnS nanostructures via liquid solid reaction, *Advanced Materials Research (AMR)*, June 2014. 184-187.

Weerachon Phoochinkong, Thitinat Sukonket, A simple method for large – scale synthesis of nano-sized zinc sulfide by simple liquid-liquid reaction, *Advanced Materials Research (AMR)*, June 2014. 188-191.

Weerachon Phoochinkong, Udomsak Kitthawee , Low – cost and fast production of nano-silica from rice husk ash, *Advanced Materials Research (AMR)*, June 2014, Vol 979, 216-219.

Weerachon Phoochinkong, Wanichaya Mekprasart and Wisanu Pecharapa, Photocatalytic Performance of Ball-Milled Anatase/Rutile Mixed Phase TiO<sub>2</sub> Composite Powders, The 2nd international Conference on Applied Physics and Material Application (ICAPMA 2015).

Weerachon Phoochinkong, and Thitinat Sukonket, Preparation of Nanosized Manganese Oxide Particles via Solid-State Route Reaction, The 2nd international Conference on Applied Physics and Material Application (ICAPMA 2015).

Weerachon Phoochinkong, Wanichaya Mekprasart, Wisanu Pecharapa, Photocatalytic performance of Anatase/Rutile TiO<sub>2</sub> composite against different organic dyes, Sakon Nakhon Rajabhat University International Conference 2015: SNRU-IC 2015.