

อนุภาคนาโนโลหะออกไซด์เพื่อการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านม

METAL OXIDE NANOPARTICLES TO SUPPRESS CULTURED HUMAN  
BREAST CANCER CELLS



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาฟิสิกส์ประยุกต์  
ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2559

KMITL-2017-SC-M-030-048

อนุภาคนาโนโลหะออกไซด์เพื่อการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านม

METAL OXIDE NANOPARTICLES TO SUPPRESS CULTURED HUMAN  
BREAST CANCER CELLS



ลดาวัลย์ ช้วนลิม  
LADAWAN SUANLIM

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาฟิสิกส์ประยุกต์  
ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
พ.ศ. 2559

KMITL-2017-SC-M-030-048

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

METAL OXIDE NANOPARTICLES TO SUPPRESS CULTURED HUMAN  
BREAST CANCER CELLS



A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR  
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN APPLIED PHYSICS  
DEPARTMENT OF APPLIED PHYSICS  
FACULTY OF SCIENCE  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG  
2016  
KMITL-2017-SC-M-030-048

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2016

FACULTY OF SCIENCE

**KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ “อนุภาคนาโนโลหะออกไซด์เพื่อการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านม”  
“METAL OXIDE NANOPARTICLES TO SUPPRESS CULTURED HUMAN BREAST  
CANCER CELLS”  
ชื่อนักศึกษา นางสาวดาววัลย์ ช้วนลิ่ม  
รหัสประจำตัว 57605082  
ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สาขาวิชาฟิสิกส์ประยุกต์)  
ภาควิชา ฟิสิกส์  
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร.กฤษกร โส้เจริญรัตน์

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.ภทริยา ดำรงค์ศักดิ์ ประธานกรรมการ ผศ.ดร.อาภาภรณ์ สุกุลการะเวก อาจารย์บัณฑิตประจำ (ในสาขาวิชาที่เกี่ยวข้อง) ดร.บดีรินทร์ ดำรงค์ศักดิ์ ผู้ทรงคุณวุฒิจากภายนอกสถาบันฯ ผศ.ดร.กฤษกร โส้เจริญรัตน์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	 นางสาว ดาววัลย์ ช้วนลิ่ม 0809082-57605082 

วัน/ เดือน/ ปี ที่สอบ พุทธศักราชที่ 20 กรกฎาคม พ.ศ. 2560 เวลา 10.00-12.00 น.  
สถานที่สอบ ณ ห้อง 307 อาคารจุฬารามณ์วิทยาลัยลักษณะ 1 ชั้น 3

คณะวิทยาศาสตร์รับรองแล้ว  
  
(รองศาสตราจารย์ ดร.ศุภณี ณะบริพัฒน์)  
คณบดีคณะวิทยาศาสตร์  
วันที่ 24 เดือน กรกฎาคม พ.ศ. 60

หัวข้อวิทยานิพนธ์	อนุภาคนาโนโลหะออกไซด์เพื่อการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านม
ชื่อนักศึกษา	นางสาวลดาวัลย์ ช้วนลิ้ม
รหัสประจำตัว	57605082
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	ฟิสิกส์ประยุกต์
พ.ศ.	2559
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร. กฤษกร ไกลเจริญรัตน์

### บทคัดย่อ

งานวิจัยฉบับนี้ทำการศึกษาผลการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านม ด้วยอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ ภายใต้กระบวนการทางโฟโตคะตะลิสต์ ซึ่งใช้วัสดุอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ ไททาเนียมไดออกไซด์ และคอปเปอร์ออกไซด์ โดยการนำผลจากการศึกษามาเปรียบเทียบหาประสิทธิภาพที่ดีที่สุดสำหรับการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านม จากการศึกษาคุณสมบัติของอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ นำมาสู่ผลสรุปได้ว่า อนุภาคนาโนโลหะออกไซด์มีค่าการดูดกลืนแสงลดลง เมื่อทำการลดค่าความเข้มข้นของสารละลายนาโนโลหะออกไซด์ ซึ่งเป็นไปตามกฎของเบียร์และแลมเบิร์ตกล่าวไว้ จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงทำให้ทราบค่าการดูดกลืนของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ ไททาเนียมไดออกไซด์ และคอปเปอร์ออกไซด์ ที่ความยาวคลื่น 350.98 - 409.10 nm, 387.78 - 390.86 nm และ 719.15 nm ตามลำดับ โดยอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ และไททาเนียมไดออกไซด์ สามารถทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมได้ดีที่สุดภายใต้การกระตุ้นด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ต ส่วนอนุภาคนาโนคอปเปอร์ออกไซด์ สามารถทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมได้ดีที่สุดภายใต้การกระตุ้นด้วยแสงขาว ซึ่งสอดคล้องกับค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ทั้ง 3 ชนิด ในส่วนของประสิทธิภาพของอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ทั้ง 3 ชนิดให้ผลสรุปว่า ผลการยับยั้งเซลล์มะเร็งเต้านมเหลือรอด อนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์มีจำนวนเซลล์มะเร็งเต้านมเหลือรอดมากที่สุดเทียบกับคอปเปอร์ออกไซด์และซิงค์ออกไซด์ และผลยังสอดคล้องกับค่าเปอร์เซ็นต์การจับกับโลหะ  $Fe^{2+}$  มากที่สุดเทียบกับคอปเปอร์ออกไซด์และซิงค์ออกไซด์ ทำให้ทราบว่าอนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมได้น้อยที่สุด เมื่อเทียบกับซิงค์ออกไซด์และคอปเปอร์ออกไซด์

**คำสำคัญ:** โฟโตคะตะลิสต์ แสงขาว อัลตราไวโอเล็ต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	METAL OXIDE NANOPARTICLES TO SUPPRESS CULTURED HUMAN BREAST CANCER CELLS
Student Name	Miss Ladawan Suanlim
Student ID	57605082
Degree	Master of Science
Department	Applied Physics
Year	2016
Thesis Advisor	Asst.Prof.Dr. Kitsakorn Locharoenrat

### Abstract

In this thesis, we have studied the photocatalytic cultured human breast cancer cell killing activity using nano-metal oxide. The material used under this work were ZnO, TiO<sub>2</sub>, and CuO nanoparticles to find the highest efficiency of cultured human breast cancer cell killing. Our findings were that the absorption of metal oxide nanoparticles was decreased when nanoparticles's concentration was decreased, corresponding to Beer-Lambert's law. ZnO, TiO<sub>2</sub> and CuO had the maximum absorbance at 350.98 - 409.10 nm, 387.78 - 390.86 nm and 719.15 nm, respectively. We have found that ZnO and TiO<sub>2</sub> could efficiently kill cancer cell under UV exposure, whilst CuO could efficiently kill cancer cell under visible light environment, in which maximum efficiency of cancer cell killing under each light wavelength activation suitably corresponded to maximum absorbance of each metal oxide. Cell killing effect in CuO and ZnO were higher than TiO<sub>2</sub>, corresponding to the results from counting breast cancer cell remaining in the system that the number of cells in TiO<sub>2</sub> was higher than and CuO and ZnO.

**Keywords:** Photocatalytic, Ultraviolet, Visible Light

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีเนื่องจากการได้รับการสนับสนุนแนะแนวทาง รวมถึงความอนุเคราะห์จากบุคคล และอาจารย์หลายๆท่าน ซึ่งต้องขอขอบพระคุณทุกๆท่านไว้ ณ โอกาสนี้ ผศ.ดร. กฤษกร โฉมเจริญรัตน์ อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ถ่ายทอดความรู้ความสามารถทั้งทางทฤษฎี และการทดลองที่ดีมาโดยตลอด คอยสั่งสอนอบรมรวมทั้งระเบียบวิธีการทำงาน ระเบียบการวิจัยให้ผลงานออกมาได้ดี ประกอบกับคำอธิบายแนวคิดแนวการศึกษา ด้วยความตั้งใจจริงของอาจารย์ในการถ่ายทอดความรู้ความสามารถ จนได้ผลงานวิจัยฉบับนี้ที่เสร็จสมบูรณ์ ผศ.ดร. ภัทริยา ดำรงค์ศักดิ์ อาจารย์และประธานกรรมการในการสอบ ผู้คอยให้คำปรึกษาและรับฟังปัญหา ตลอดจนการเอื้อเฟื้อห้องปฏิบัติการทดลองรวมทั้งเครื่องมือและอุปกรณ์ในการทำวิจัย คณะกรรมการในการสอบ ผศ.ดร. อภาภรณ์ สกฤตการะเวก ดร. บดินทร์ ดำรงค์ศักดิ์ ที่รับฟัง ตีชม ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องให้งานวิจัยฉบับนี้ออกมาสมบูรณ์ที่สุด รวมทั้งขอขอบคุณ ดร. สุทธิจิต ศรีวัชรกุล อาจารย์ประจำภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สจล. ในการถ่ายทอดความรู้เรื่องพื้นฐานเซลล์ เซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยง และกระบวนการนับเซลล์ รวมทั้งต้องขอขอบคุณทุนอุดหนุนการศึกษาในระดับมหาบัณฑิตของคณะวิทยาศาสตร์ สจล. ที่อุปการะทุนการศึกษาทำให้ผู้วิจัยได้ศึกษาพร้อมทั้งผลิตงานวิจัยฉบับนี้ออกมาได้

ในส่วนของบรรยากาศสำหรับการศึกษาและการทำงานวิจัยก็เป็นสิ่งสำคัญ ต้องขอขอบคุณรุ่นพี่รุ่นน้องและเพื่อนๆในการร่วมฝ่าฟันอุปสรรคเพื่อได้มาซึ่งความสำเร็จ ทำให้รู้ว่าการมีเพื่อนและเพื่อนที่ดีเป็นเหมือนรางวัลที่งดงาม คอยรับฟังปัญหาซึ่งกันและกัน รวมทั้งแก้ไขปัญหาเพื่อผ่านพ้นอุปสรรคนานาไปได้ คำว่าฟิลิปปส์ ลาดกระบังฯ จะเป็นเสมือนพลังและเกะกำบังที่แข็งแกร่งในการก้าวเดินต่อไปสู่ออนาคตข้างหน้า

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณท่านผู้มีความสำคัญที่สุดในชีวิต ได้แก่ บิดามารดา และทุกคนในครอบครัวของผู้วิจัย ผู้ซึ่งคอยอบรมสั่งสอนคอยให้กำลังใจ และการสนับสนุนอยู่เบื้องหลังตลอดการทำงานที่ผ่านมา คำพูดและความห่วงใยของท่านส่งผลต่อพลังกำลังใจและกาย ในการทำงานวิจัยฉบับนี้จนสำเร็จลุล่วงสำเร็จไปได้ด้วยดี ทุกท่านเป็นดั่งแรงขับเคลื่อนที่ยิ่งใหญ่ในชีวิต จึงขอกราบขอบพระคุณทุกๆท่านไว้ ณ โอกาสนี้ด้วย

นางสาวลดาวัลย์ ช้วนลิ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญรูป	ฉ
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย	2
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ขั้นตอนการดำเนินงาน	2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
<b>บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b>	
2.1 สมบัติทั่วไปของสารโลหะออกไซด์	4
2.2 ประโยชน์ของอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์	8
2.3 กลไกการทำงานโดยการเร่งปฏิกิริยาทางแสง	9
2.3.1 การเร่งปฏิกิริยาทางแสงของอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ผสม	11
2.4 ธรรมชาติทั่วไปของเซลล์	13
2.5 การลำเลียงสารเข้าสู่เซลล์	14
2.5.1 การลำเลียงสารโดยผ่านเยื่อหุ้มเซลล์	14
2.5.2 การลำเลียงสารโดยไม่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์	15
2.6 เซลล์ไลน์	17
2.7 การนับจำนวนเซลล์เหลือรอดจากการทดลอง	18
2.8 หลักการทางสเปกโทรสโกปี	20
2.9 ความสัมพันธ์ระหว่างการดูดกลืนแสงกับค่าความเข้มข้น	21
2.9.1 การวัดค่าการดูดกลืนแสง	22
2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ที่บริษัทกรูเพอ จำกัด ใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
<b>บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย</b>	
3.1 อุปกรณ์เครื่องมือและสารเคมี	27
3.1.1 เครื่องมือ	27
3.1.2 เครื่องแก้ว	27
3.1.3 วัสดุ	27
3.1.4 สารเคมี	28
3.2 ขั้นตอนการเตรียมสารละลายอนุภาคนาโนกลุ่มโลหะออกไซด์	28
3.2.1 ขั้นตอนการเตรียมสารละลายนาโนซิงค์ออกไซด์	28
3.2.2 ขั้นตอนการเตรียมสารละลายนาโนไททาเนียมไดออกไซด์	30
3.2.3 ขั้นตอนการเตรียมสารละลายนาโนคอปเปอร์ออกไซด์	31
3.3 ขั้นตอนการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านม	32
3.4 ขั้นตอนการนับจำนวนเซลล์	35
3.5 สมการคำนวณจำนวนเซลล์เหลือรอด	37
3.5.1 ตัวอย่างการคำนวณจำนวนเซลล์เหลือรอด	38
<b>บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล</b>	
4.1 ศึกษาคุณสมบัติทางแสงของอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์	39
4.1.1 ผลการวิจัยค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์	39
4.1.2 อภิปรายผลการดูดกลืนแสงของอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์	41
4.2 ศึกษาผลการทำลายเซลล์มะเร็งจากโลหะหนักและอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์	43
4.2.1 ผลการดูดกลืนของสารละลายนาโนโลหะออกไซด์หลังการกระตุ้นแสง	43
4.2.2 อภิปรายผลการดูดกลืนของนาโนโลหะออกไซด์ที่จับกับโลหะหนัก	48
4.3 ศึกษาผลการทำลายเซลล์มะเร็งจากการนับจำนวนเซลล์	49
4.3.1 ผลการนับจำนวนเซลล์มะเร็งเหลือรอดของสารละลายโลหะออกไซด์	49
4.3.2 อภิปรายผลการนับจำนวนเซลล์ของสารละลายโลหะออกไซด์	50
<b>บทที่ 5 สรุปการวิจัยและข้อเสนอแนะ</b>	
5.1 สรุปผลการวิจัย	53
5.2 ข้อเสนอแนะ	54
เอกสารอ้างอิง	55
ภาคผนวก	60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 แสดงคุณสมบัติทางกายภาพของซิงค์ออกไซด์	4
2.2 แสดงคุณสมบัติทางกายภาพของไททาเนียมไดออกไซด์	6
2.3 แสดงคุณสมบัติทางกายภาพของคอปเปอร์ออกไซด์	7
4.1 แสดงเปอร์เซ็นต์การเข้าสู่เซลล์ของสารละลายนาโนโลหะออกไซด์จับกับโลหะเหล็ก	47



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 แสดงโครงสร้างผลึกของซิงค์ออกไซด์	5
2.2 แสดงโครงสร้างผลึกของไททาเนียมไดออกไซด์	7
2.3 แสดงโครงสร้างผลึกของคอปเปอร์ออกไซด์	8
2.4 แสดงแถบพลังงานของสารกึ่งตัวนำ	9
2.5 แสดงการเกิดกระบวนการโฟโตคะตะลิสต์ หรือการเร่งปฏิกิริยาด้วยแสง	10
2.6 แสดงโครงสร้างและส่วนประกอบของเซลล์	13
2.7 แสดงการเคลื่อนที่ของสาร S ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์โดยอาศัยตัวพา C	15
2.8 แสดงการลำเลียงสารโมเลกุลใหญ่ออกจากเซลล์	15
2.9 แสดงการลำเลียงสารเข้าสู่เซลล์ของเอนโดไซโทซิสทั้ง 3 แบบ	16
2.10 เซลล์ไลน์มะเร็งเต้านมของมนุษย์ ชนิด MCF-7	17
2.11 (ก) ฮีมาไซโตมิเตอร์, (ข) แคมเบอร์ภายในฮีมาไซโตมิเตอร์	19
2.12 เซลล์เหลือรอด และ เซลล์ตาย	19
2.13 แสดงลำแสงเมื่อกระทบตัวอย่าง	20
2.14 แสดงสเปกตรัมของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าและความยาวคลื่นแสง	20
2.15 แสดงแสงเดินทางผ่านความเข้มข้นต่างๆ	22
2.16 แสดงลำแสงที่ผ่านเข้าและออกจากสารละลาย	22
3.1 แสดงความเข้มข้นของสารละลายนาโนซิงค์ออกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ	30
3.2 แสดงความเข้มข้นของสารละลายนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ	31
3.3 แสดงความเข้มข้นของสารละลายนาโนคอปเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ	32
3.4 เพลทใส่เซลล์มะเร็งเต้านมเพาะเลี้ยงในปริมาตรหลุมละ 1 mL	32
3.5 แสดงความเข้มข้นของสารละลายนาโนซิงค์ออกไซด์ในคิวเวท	33
3.6 แสดงความเข้มข้นของสารละลายนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ในคิวเวท	33
3.7 แสดงความเข้มข้นของสารละลายนาโนคอปเปอร์ออกไซด์ในคิวเวท	33
3.8 เพลทใส่เซลล์มะเร็ง (As') และเซลล์ควบคุม (Ac')	34
3.9 เพลทใส่เซลล์มะเร็ง (As) และ เซลล์ควบคุม (Ac)	34
3.10 (As) และ (Ac) เมื่อเติมน้ำ DI + FeCl <sub>2</sub> + Ferrozine	35
3.11 แสดงรูปเพลทที่มีเซลล์มะเร็ง	35
3.12 แสดงการนับเซลล์โดยใช้กล้องจุลทรรศน์	36
3.13 เซลล์มีชีวิต และ เซลล์ตาย	37
3.14 ตารางกริดภายในฮีมาไซโตมิเตอร์ ที่มีช่องใหญ่ทั้ง 5 ช่องใน 1 แคมเบอร์ (Chamber)	37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
3.15 แสดงเลขจำนวนนับเซลล์มะเร็ง	38
4.1 สเปกตรัมของสารละลายนาโนซิงค์ออกไซด์ตามลำดับค่าของความเข้มข้น	39
4.2 สเปกตรัมของสารละลายนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ตามลำดับค่าของความเข้มข้น	40
4.3 สเปกตรัมของสารละลายนาโนคอปเปอร์ออกไซด์ตามลำดับค่าของความเข้มข้น	40
4.4 ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดกับค่าความเข้มข้นของสารละลายนาโนซิงค์ออกไซด์	41
4.5 ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดกับค่าความเข้มข้นของสารละลายนาโนไททาเนียมไดออกไซด์	41
4.6 ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดกับค่าความเข้มข้นของสารละลายนาโนคอปเปอร์ออกไซด์	42
4.7 การเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารละลายนาโนซิงค์ออกไซด์ ไททาเนียมไดออกไซด์ และคอปเปอร์ออกไซด์	42
4.8 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายนาโนซิงค์ออกไซด์ที่เติมโลหะเหล็ก หลังการกระตุ้นด้วยแสง Ultraviolet ในเซลล์เซลล์มะเร็ง (As)	43
4.9 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายนาโนซิงค์ออกไซด์ที่เติมโลหะเหล็ก หลังการกระตุ้นด้วยแสง Ultraviolet ในเซลล์ควบคุม (Ac)	44
4.10 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายนาโนไททาเนียมออกไซด์ที่เติมโลหะ เหล็กหลังการกระตุ้นด้วยแสง Ultraviolet ในเซลล์เซลล์มะเร็ง (As)	44
4.11 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายนาโนไททาเนียมออกไซด์ที่เติมโลหะ เหล็กหลังการกระตุ้นด้วยแสง Ultraviolet ในเซลล์ควบคุม (Ac)	44
4.12 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายนาโนคอปเปอร์ออกไซด์ที่เติมโลหะ เหล็กหลังการกระตุ้นด้วยแสง Visible light ในเซลล์เซลล์มะเร็ง (As)	45
4.13 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายนาโนคอปเปอร์ออกไซด์ที่เติมโลหะ เหล็กหลังการกระตุ้นด้วยแสง Visible light ในเซลล์ควบคุม (Ac)	45
4.14 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายนาโนซิงค์ออกไซด์หลังการกระตุ้นด้วยแสง Ultraviolet ทั้ง (As) และ (Ac)	46
4.15 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายนาโนไททาเนียมไดออกไซด์หลังการกระตุ้น ด้วยแสง Ultraviolet ทั้ง (As) และ (Ac)	46
4.16 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายนาโนคอปเปอร์ออกไซด์หลังการกระตุ้นด้วย แสง Visible light ทั้ง (As) และ (Ac)	47
4.17 แสดงเปอร์เซ็นต์การจับกับโลหะเหล็กของอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ทั้ง 3 ชนิด	48
4.18 จำนวนเซลล์เหลือรอดในสารละลายนาโนซิงค์ออกไซด์ภายใต้การกระตุ้นด้วยแสง	49
4.19 จำนวนเซลล์เหลือรอดในสารละลายนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ภายใต้การกระตุ้นด้วยแสง	49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.20 จำนวนเซลล์เหลือรอดในสารละลายนาโนคอปเปอร์ออกไซด์ภายใต้การกระตุ้นด้วยแสง	50
4.21 แสดงเปอร์เซ็นต์จำนวนเซลล์มะเร็งเหลือรอดของสารละลายนาโนโลหะออกไซด์ทั้ง 3 ชนิด	51
4.22 แสดงการทำลายพันธะระหว่าง A (Adenine) กับ T (Thymine) ใน DNA	52
4.23 แสดงการทำลายพันธะระหว่าง G (Guanine) กับ C (Cytosine) ใน DNA	52



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

ในโลกของวงการวิทยาศาสตร์ปัจจุบัน นาโนเทคโนโลยีนับว่ามีบทบาทสำคัญต่อการพัฒนา งานวิจัยใหม่ๆ ซึ่งสามารถครอบคลุมองค์ความรู้ทางวิทยาศาสตร์หลายสาขา และเทคโนโลยีที่ หลากหลายเข้าด้วยกัน ด้วยความน่าสนใจของศาสตร์ระดับนาโนจึงก่อเกิดแนวคิดที่ว่า หาก ทำการศึกษาสารบางชนิดที่ถูกผลิตอยู่ในรูปขนาดนาโนจะมีคุณสมบัติพิเศษอย่างไร และนำไป ประยุกต์ใช้เพื่อก่อเกิดประโยชน์ได้อย่างไร

จากการค้นคว้าได้พบคุณสมบัติที่น่าประทับใจของสารโลหะออกไซด์ในระดับนาโน ซึ่ง งานวิจัยฉบับนี้เลือกใช้สารกลุ่มโลหะออกไซด์ 3 ชนิดด้วยกันคือ ซิงค์ออกไซด์ (Zinc oxide) ไททา- เนียมไดออกไซด์ (Titanium dioxide) และคอปเปอร์ออกไซด์ (Copper oxide) โดยมีคุณสมบัติ พิเศษด้านการเร่งปฏิกิริยาด้วยแสง หรือทางด้านโฟโตคะตะลิสต์ (Photocatalyst) ซึ่งมักเกิดกับสาร โลหะออกไซด์ที่มีขนาดของอนุภาคเล็กในระดับนาโน [1] และคุณสมบัติพิเศษนี้สามารถนำมาจัด มลภาวะทางสิ่งแวดล้อมได้ ไม่ว่าจะเป็นการบำบัดน้ำเสีย การบำบัดอากาศ รวมถึงการทำลายเชื้อรา หรือแบคทีเรียบางชนิดได้เช่นกัน [2]

จากแนวคิดและคุณสมบัติพิเศษของสารข้างต้น ประกอบกับสารจำพวกกลุ่มโลหะออกไซด์มี ความบริสุทธิ์สูง หรือส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตน้อยมาก [3-4] จึงมักพบเห็นของใช้ในชีวิตประจำวันมี ส่วนผสมของ ซิงค์ออกไซด์ ไททาเนียมไดออกไซด์ รวมอยู่ด้วย เช่น แป้งทาตัวหรือทาหน้า ครีมบำรุง ผิว, ครีมกันแดด หรือแม้แต่เครื่องสำอางชนิดต่างๆ ซึ่งนับว่าสารออกไซด์ เช่น ซิงค์ออกไซด์ ไททา- เนียมไดออกไซด์ และ คอปเปอร์ออกไซด์ เป็นกลุ่มสารที่ปลอดภัยไม่เป็นพิษภัยต่อมนุษย์และสิ่งมีชีวิต เราจึงเล็งเห็นถึงประโยชน์จากคุณสมบัติพิเศษของสารจำพวกโลหะออกไซด์ โดยการนำมาประยุกต์ใช้ เพื่อทำลาย หรือฆ่าเซลล์มะเร็งได้ โดยคาดหวังว่าจะเป็นแนวทางเลือกใหม่ให้กับวงการแพทย์ ได้ คัดเลือกวิธีการในการรักษาโรคมะเร็ง และเพื่อเป็นประโยชน์ต่อคุณภาพชีวิตมนุษย์จากโรคมะเร็งที่ ร้ายแรงต่อไป

ซึ่งงานวิจัยฉบับนี้ เราเลือกใช้สารอนุภาคนาโนกลุ่มโลหะออกไซด์ ในการนำมาประยุกต์ใช้ เพื่อทำลายเซลล์โล้นมะเร็งเต้านมชนิด (MCF-7) ซึ่งเป็นเซลล์โล้นมะเร็งเต้านมที่เพราะเสี่ยงเพื่อ การศึกษา โดยงานวิจัยฉบับนี้เราเล็งเห็นถึงความอันตรายในโรคมะเร็งเต้านม ซึ่งเป็นสาเหตุการ เจ็บป่วยรวมถึงการเสียชีวิตในอันดับต้นๆของผู้หญิงไทยและทั่วโลก โดยเฉพาะประเทศไทย ยังพบ อัตราการเกิดโรคมะเร็งเต้านมสูงขึ้นเป็นอันดับแรก ซึ่งมากกว่ามะเร็งปากมดลูกเฉลี่ยระยะเวลา

ยาวนานมาเกือบสิบปี [5]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1) เพื่อศึกษาผลความเข้มข้นของสารอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ชนิด ซิงค์ออกไซด์ ไททาเนียม-ไดออกไซด์ และ คอปเปอร์ออกไซด์ ในการทำลาย เซลล์มะเร็งเต้านมเพาะเลี้ยง ( MCF-7 )
- 2) เพื่อวิเคราะห์กลไกการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมเพาะเลี้ยง (MCF-7) โดยผ่านกระบวนการทางโฟโตคะตะลิสต์
- 3) เพื่อเปรียบเทียบหาประสิทธิภาพที่ดีที่สุดในการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมเพาะเลี้ยง (MCF-7) ของสารนาโนโลหะออกไซด์ชนิด ซิงค์ออกไซด์ ไททาเนียมไดออกไซด์ และคอปเปอร์-ออกไซด์

## 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

- 1) ศึกษาปริมาณความเข้มข้นของสารอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ชนิด ซิงค์ออกไซด์ ไททาเนียมไดออกไซด์ และคอปเปอร์ออกไซด์ ในการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมเพาะเลี้ยง (MCF-7) โดยความเข้มข้นที่ศึกษาได้แก่ 2.56, 1.28, 0.64, 0.32, 0.16, 0.08, 0.04, 0.02, 0.01, 0.005, 0.0025 และ 0mg/mL ทั้งหมด 12 ความเข้มข้น
- 2) ศึกษาการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมเพาะเลี้ยง (MCF-7) ด้วยคุณสมบัติทางโฟโตคะตะลิสต์ โดยใช้หลักการกระตุ้นแสง 2 แบบ คือ Ultraviolet (UV) ที่ความยาวคลื่นประมาณ 100 ถึง 400 nm. และแสง Visible Light (Vis) ที่ความยาวคลื่นประมาณ 400 ถึง 700 nm พร้อมตรวจนับเซลล์มะเร็งเต้านมที่เหลือรอดจากการทำลายโดยใช้กล้องจุลทรรศน์
- 3) ทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพที่ดีที่สุดของสารอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ชนิด ซิงค์ออกไซด์ ไททาเนียมไดออกไซด์ และคอปเปอร์ออกไซด์ ในการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมเพาะเลี้ยง (MCF-7)

## 1.4 ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย

- 1) ศึกษาทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง ร่วมกับแปลงงานวิจัยอ้างอิง
- 2) ศึกษาการเกิด และการทำลายเซลล์มะเร็ง
- 3) เตรียมและเฝ้าผลการเลี้ยงเซลล์มะเร็งทดลอง
- 4) ตรวจสอบสภาพเซลล์มะเร็งทดลองด้วยกล้องจุลทรรศน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 5) ทรีทเมนต์เซลล์มะเร็งทดลองด้วยอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ทั้ง 3 ชนิดผ่านกระบวนการทางโฟโตคะตะลิสต์
- 6) วัดสเปกตรัม และนับจำนวนเซลล์มะเร็งที่มีชีวิตเหลือรอด
- 7) เก็บผลการทดลอง พร้อมวิเคราะห์ผลการทดลอง
- 8) สรุปผลงานวิจัยพร้อมข้อเสนอแนะ และเขียนรายงาน

### 1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) ได้รับความรู้เชิงเทคนิคในการใช้และเตรียมอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ เพื่อประยุกต์ใช้ในการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมเพาะเลี้ยง (MCF-7)
- 2) สามารถเข้าใจกลไกและคุณสมบัติของสารอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ชนิด ซิงค์ออกไซด์ ไททาเนียมไดออกไซด์ และคอปเปอร์ออกไซด์ ในการนำไปประยุกต์ใช้เพื่อทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมเพาะเลี้ยง (MCF-7)
- 3) ได้ทราบว่าสารอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ชนิด ซิงค์ออกไซด์ ไททาเนียมไดออกไซด์ และคอปเปอร์ออกไซด์ ทั้ง 3 ชนิดนี้ ชนิดใดมีประสิทธิภาพดีที่สุดในการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมเพาะเลี้ยง (MCF-7) ด้วยกระบวนการทางโฟโตคะตะลิสต์
- 4) เข้าใจถึงประโยชน์ของสารอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ชนิด ซิงค์ออกไซด์ ไททาเนียมไดออกไซด์ และคอปเปอร์ออกไซด์ เพื่อนำไปประยุกต์ใช้กับงานวิจัยใหม่ในภายหน้า
- 5) เป็นการนำองค์ความรู้ทางวิทยาศาสตร์ทั้ง กายภาพ เคมี และชีวภาพ มาประยุกต์ใช้เพื่อสร้างสรรค์งานวิจัยให้ได้ประสิทธิภาพสูงสุด โดยเป็นประโยชน์ต่อวงการวิทยาศาสตร์ และต่อยอดสู่งานวิจัยเชิงพาณิชย์ต่อไปได้
- 6) สามารถนำผลงานวิจัยไปตีพิมพ์วารสารวิชาการระดับชาติ หรือนานาชาติได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เนื้อหาของวิจัยในบทนี้จะกล่าวถึงทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับผลการทำลายเซลล์มะเร็ง ต้านมะเร็ง (MCF-7) โดยใช้สารอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ชนิด ซิงค์ออกไซด์ ไททาเนียมไดออกไซด์ และคอปเปอร์ออกไซด์ เพื่อใช้เป็นประโยชน์ในการวิจัยยับยั้งเซลล์มะเร็ง ต้านมะเร็ง และเป็น การเพิ่มทางเลือกใหม่ให้กับวงการแพทย์เพื่อใช้ในการทำลายเซลล์มะเร็ง ต้านมะเร็งต่อไป

### 2.1 สมบัติทั่วไปของสารโลหะออกไซด์

- 1) **ซิงค์ออกไซด์** เป็นธาตุที่พบเจอได้ตามธรรมชาติ ซึ่งมนุษย์นิยมนำมาใช้รักษาโรค อาจจะเป็นที่รู้จักกันดีในชื่อ คาลาไมล์ โดยมีลักษณะเป็นผงละเอียดสีขาว เป็นสารกึ่งตัวนำแถบพลังงาน กว้างมีค่าแถบพลังงานอยู่ที่ 3.37 eV [6] และมีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย (Anti - Bacteria) อีกทั้งไม่มีความเป็นพิษต่อร่างกายมนุษย์ ส่วนอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ เป็นผลผลิตที่ได้จากการกระบวนการลดเปลี่ยนขนาดของอนุภาคซิงค์ออกไซด์ให้มีขนาดเล็กลงจนอยู่ในระดับนาโนเมตร ( $10^{-9}$  เมตร) ซึ่งมีความบริสุทธิ์สูง และสามารถป้องกันรังสี UV-A และ UV-B ได้ [7] โดยแสดงคุณสมบัติทางกายภาพของซิงค์ออกไซด์ ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 แสดงคุณสมบัติทางกายภาพของซิงค์ออกไซด์ [8]

คุณสมบัติทางกายภาพของซิงค์ออกไซด์	
ชื่อ	ซิงค์ออกไซด์ (Zinc Oxide)
ลักษณะทางกายภาพ	ผงละเอียดสีขาว
สูตรโมเลกุล	ZnO
ความบริสุทธิ์	99 เปอร์เซ็นต์
น้ำหนักโมเลกุล	81.408 กรัม/โมล
ขนาดอนุภาคเฉลี่ย	<100 นาโนเมตร
ความหนาแน่น	5.606 กรัม/ลูกบาศก์เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

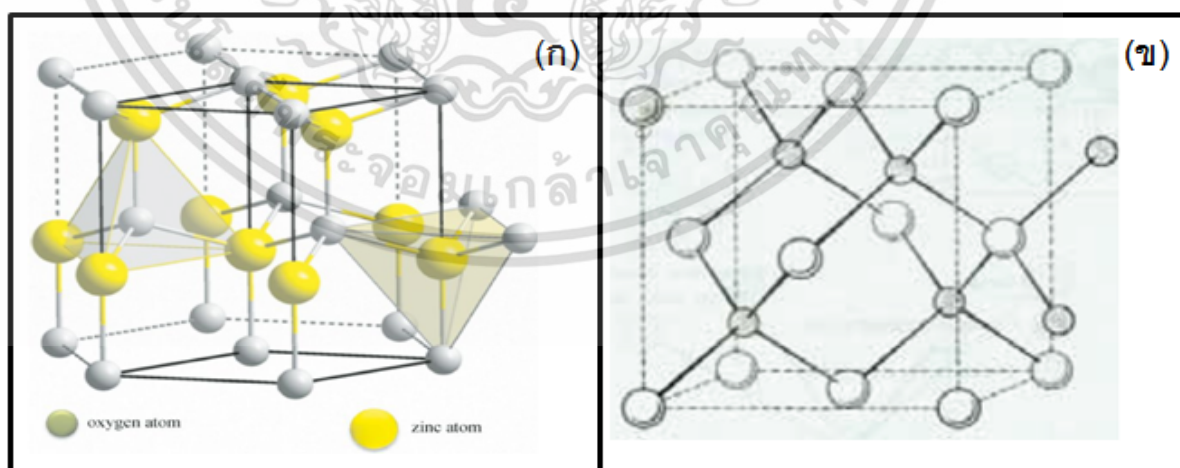
คุณสมบัติทางกายภาพของซิงค์ออกไซด์ (ต่อ)	
พื้นที่ผิวจำเพาะ	26.22 ตารางเมตร/กรัม
ช่องว่างแถบพลังงาน	3.37 อิเล็กตรอนโวลต์

### โครงสร้างผลึกของซิงค์ออกไซด์

ซิงค์ออกไซด์มีโครงสร้างผลึกโดยทั่วไปอยู่ 2 แบบคือ โครงสร้างเวิร์ทไซท์ (Wurtzite Structure) และ โครงสร้างซิงค์เบลนด์ (Zinc Blend Structure)

โครงสร้างเวิร์ทไซท์ ประกอบด้วยไอออน  $O^{-2}$  โดยการจัดเรียงตัวกันของโครงผลึกจะอยู่ในรูปของเฮกซาโกนอล และมี  $Zn^{+2}$  แทรกอยู่ ซึ่งซิงค์ออกไซด์มีอัตราส่วนของรัศมีอยู่ 0.25 นั้นแสดงถึง  $Zn^{+2}$  จะมี  $O^{-2}$  ทั้งหมด 4 ตัวล้อมรอบ โดยความแข็งแรงของพันธะจะมีค่าอยู่ที่ 0.5 ดังนั้น  $O^{-2}$  ก็จะมี  $Zn^{+2}$  อยู่ทั้งหมด 4 ตัวที่ล้อมรอบอยู่เช่นกัน ทำให้เลขโคออร์ดิเนชันของสารประกอบมีค่าเท่ากับ 4:4 ดังแสดงให้เห็นในรูปที่ 2.1(ก)

โครงสร้างซิงค์เบลนด์ ประกอบด้วยไอออน  $O^{-2}$  และ  $Zn^{+2}$  เหมือนกับโครงสร้างเวิร์ทไซท์ แต่มีความแตกต่างกันที่การจัดเรียงโครงผลึก ซึ่งโครงสร้างซิงค์เบลนด์จะมีโครงผลึกจะอยู่ในรูปของ Face – Centered Cubic Structure (FCC) และมีเลขโคออร์ดิเนชันของสารประกอบเท่ากับ 4:4 เช่นกัน ดังแสดงให้เห็นในรูปที่ 2.1(ข) [7]



รูปที่ 2.1 แสดงโครงสร้างผลึกของซิงค์ออกไซด์

(ก) โครงสร้างแบบเวิร์ทไซท์ และ (ข) โครงสร้างแบบซิงค์เบลนด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 1) ไททาเนียมไดออกไซด์ เป็นธาตุที่พบเจอจากธรรมชาติได้น้อยมาก เพราะส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของแร่อิลเมนิต์ (Ilmenite) หรือ ลิโวซีน (Leucocene) โดยมีกระบวนการทำให้ธาตุบริสุทธิ์ได้โดยวิธี Rutile Beach Sand และไม่มีความเป็นพิษต่อร่างกายมนุษย์ โดยมีคุณสมบัติเป็นสารกึ่งตัวนำที่มีแถบพลังงานกว้าง โดยนิยมนำมาใช้ในงานด้านการเร่งปฏิกิริยาการด้วยแสงอย่างแพร่หลาย เนื่องจากไททาเนียมไดออกไซด์มีค่าของแถบพลังงานอยู่ที่ 3.2 eV [9] ซึ่งมีความเหมาะสมกับชนิดแสง UV-A และ UV-B ซึ่งทำให้กระบวนการเร่งปฏิกิริยาทางแสงของไททาเนียมไดออกไซด์มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายภายใต้แสงค้อยข้างสูง [2] โดยแสดงคุณสมบัติทางกายภาพของไททาเนียมไดออกไซด์ ดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 แสดงคุณสมบัติทางกายภาพของไททาเนียมไดออกไซด์ [10]

คุณสมบัติทางกายภาพของไททาเนียมไดออกไซด์	
ชื่อ	ไททาเนียมไดออกไซด์ (Titaniumdioxide)
ลักษณะทางกายภาพ	ผงละเอียดสีขาว
สูตรโมเลกุล	TiO <sub>2</sub>
ความบริสุทธิ์	99 เปอร์เซ็นต์
น้ำหนักโมเลกุล	79.87 กรัม/โมล
ขนาดอนุภาคเฉลี่ย	<100 นาโนเมตร
ความหนาแน่น	3.84-4.26 กรัม/ลูกบาศก์เซนติเมตร
พื้นที่ผิวจำเพาะ	50 ตารางเมตร/กรัม
ช่องว่างแถบพลังงาน	3.2 อิเล็กตรอนโวลต์

#### โครงสร้างผลึกของไททาเนียมไดออกไซด์

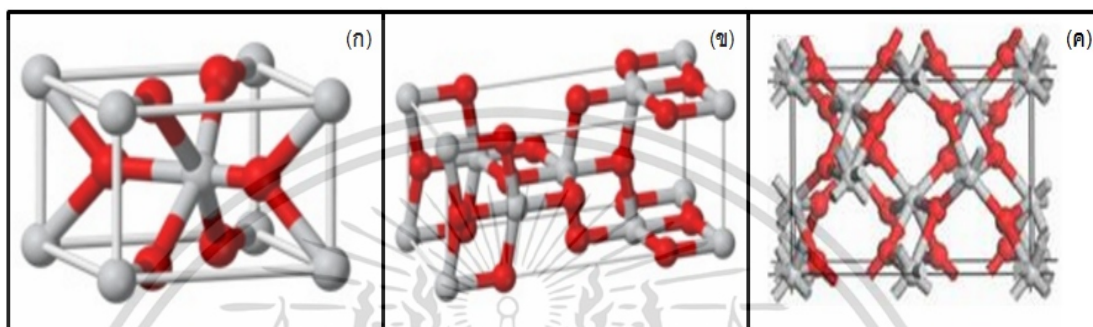
โครงสร้างผลึกของไททาเนียมไดออกไซด์ที่อยู่ในรูปแบบทั่วไปจะมีรูปแบบของโครงผลึกอยู่ 3 แบบด้วยกัน นั่นคือ

โครงสร้างแบบรูไทล์ (Rutile) มีสถานะภาพความเสถียรสูงมากที่อุณหภูมิสูงๆ โครงสร้างแบบรูไทล์ จะนิยมใช้ส่วนมากในงานด้านอุตสาหกรรม เช่น โรงงานสี โรงงานทำเครื่องสำอาง โรงงานทำอาหาร เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงสร้างแบบอนาเทส (Anatase) มีสถานะภาพความเสถียรสูงที่อุณหภูมิต่ำกว่าโครงสร้างแบบรูไทล์ ซึ่งผลึกชนิดนี้นิยมใช้ในกระบวนการเร่งปฏิกิริยาทางแสง

โครงสร้างแบบบรูคไคท์ (Brookite) เป็นโครงสร้างที่พบเจอในแร่เท่านั้น และมีโครงสร้างผลึกแบบออร์ทอโรมบิก (Orthorhombic) ซึ่งโครงสร้างผลึกทั้ง 3 แบบประกอบขึ้นจากหน่วยพื้นฐานรูปทรงแปดหน้า ( $\text{TiO}_2$  Octahedral) อะตอมไททาเนียม (Ti) จำนวน 1 อะตอมจะถูกล้อมรอบด้วยอะตอมออกซิเจน (O) จำนวน 6 อะตอม ซึ่งแต่ละโครงสร้างจะแสดงให้เห็นดังรูปที่ 2.2 [11]



รูปที่ 2.2 แสดงโครงสร้างผลึกของไททาเนียมไดออกไซด์

- 2) คอปเปอร์ไดออกไซด์ เป็นธาตุที่อยู่ในกลุ่มโลหะทรานซิชันมีประจุเท่ากับ +2 หรือ +3 มีโครงสร้างแบบมอนอคลินิก (Monoclinic) โดยมีลักษณะเป็นผงละเอียดสีดำ เป็นสารกึ่งตัวนำที่มีค่าแถบพลังงานอยู่ที่ 1.85 eV [12] มีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย (Anti - Bacteria) โดยใช้กระบวนการเร่งปฏิกิริยาทางแสง อีกทั้งไม่เป็นพิษต่อร่างกายมนุษย์ โดยแสดงคุณสมบัติทางกายภาพของคอปเปอร์ออกไซด์ ดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 แสดงคุณสมบัติทางกายภาพของคอปเปอร์ออกไซด์ [13]

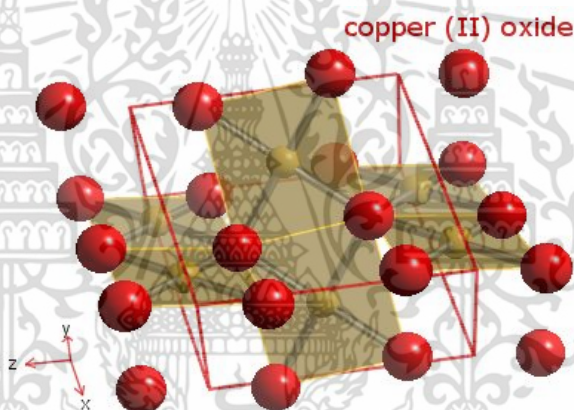
คุณสมบัติทางกายภาพของคอปเปอร์ออกไซด์	
ชื่อ	คอปเปอร์ออกไซด์ (Copper Oxide)
ลักษณะทางกายภาพ	ผงละเอียดสีดำ
สูตรโมเลกุล	CuO
ความบริสุทธิ์	99 เปอร์เซ็นต์
น้ำหนักโมเลกุล	79.55 กรัม/โมล
ขนาดอนุภาคเฉลี่ย	20 - 50นาโนเมตร
ความหนาแน่น	8.02-8.96 กรัม/ลูกบาศก์เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านอื่นๆ  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คุณสมบัติทางกายภาพของคอปเปอร์ออกไซด์ (ต่อ)	
พื้นที่ผิวจำเพาะ	48.16 ตารางเมตร/กรัม
ช่องว่างแถบพลังงาน	1.85 อิเล็กตรอนโวลต์

### โครงสร้างผลึกของคอปเปอร์ออกไซด์

โครงสร้างผลึกของคอปเปอร์ออกไซด์ เป็นโครงสร้างผลึกแบบมอนอคลินิก มีประจุเท่ากับ +2 หรือ +3 โดยมี คอปเปอร์ (Cu) เป็นธาตุที่อยู่ในกลุ่มโลหะทรานซิชัน อยู่ ณ ตำแหน่งบริเวณตรงกลาง โดยถูกล้อมรอบไปด้วยอะตอมของออกซิเจนจำนวน 4 อะตอม โดยจะมีด้านของโครงสร้าง 3 ด้าน ซึ่งมีความยาวไม่เท่ากัน [12] แสดงให้เห็นดังรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 แสดงโครงสร้างผลึกของคอปเปอร์ออกไซด์

## 2.2 ประโยชน์ของอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์

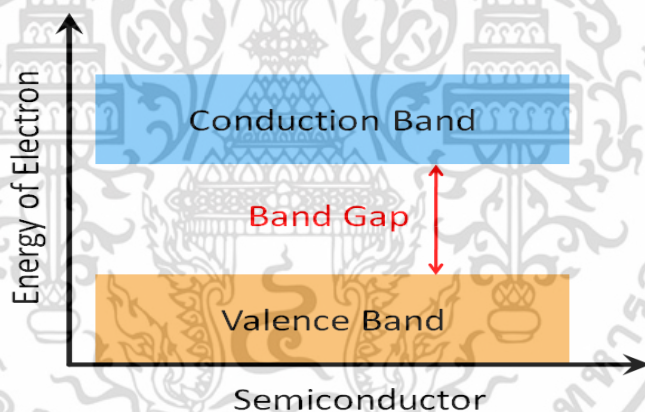
สารจำพวกอนุภาคนาโนกลุ่มโลหะออกไซด์ในปัจจุบันได้รับความสนใจนำมาประยุกต์ใช้หลากหลายด้าน เนื่องจากคุณสมบัติพิเศษในตัวของสารเอง เช่นมีคุณสมบัติของการเป็นสารกึ่งตัวนำที่มีแถบพลังงานกว้าง ดูดซับแสงและเร่งปฏิกิริยาทางแสงได้ดีเนื่องจากมีพื้นที่ผิวต่อปริมาตรสูง ต้นทุนต่ำเนื่องจากเป็นสารที่มีจำนวนมากในธรรมชาติ อีกทั้งไม่เป็นพิษต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม จึงมักเป็นกลุ่มสารที่นักวิจัยให้ความสนใจนำมาประยุกต์ใช้งานหลากหลายด้านเช่น งานด้านการบำบัดสิ่งแวดล้อม เนื่องจากมีสมบัติที่ดีในด้านการดูดซับแสงและสมบัติด้านการเร่งปฏิกิริยาด้วยแสง [9,14-15] งานด้านกำจัดและยับยั้งแบคทีเรีย (Anti-bacteria) รวมถึงการยับยั้งการแบ่งเซลล์ของแบคทีเรีย [2,14] งานด้านการบำบัดน้ำเสีย [16] งานด้านอิเล็กทรอนิกส์หรืออุปกรณ์ตรวจจับก๊าซ และยังนิยมใช้เป็นผลิตรั้วที่ใช้ได้กับมนุษย์ได้โดยตรง เช่น เครื่องสำอางโลชั่น และครีมกันแดด เป็นต้น เนื่องจากเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารกลุ่มโลหะออกไซด์มีความสามารถป้องกันรังสี UV-A และ UV-B อีกทั้งไม่ทิ้งร่องรอยหรือคราบสีขาว เพราะคุณสมบัติโปร่งแสงของสารกลุ่มโลหะออกไซด์นั่นเอง [1] ด้วยเหตุผลนี้อนุภาคนาโนกลุ่มโลหะออกไซด์จึงเป็นสารที่ได้รับความนิยมจากนักวิจัย รวมถึงงานวิจัยฉบับนี้ด้วยเช่นกัน

## 2.3 กลไกการทำงานโดยการเร่งปฏิกิริยาทางแสง

ในส่วนของกลไกการเร่งปฏิกิริยาด้วยแสง คือการใช้แสงเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา หรือเรียกว่า กระบวนการทางโฟโตคะตะลิสต์ (Photocatalyst) ซึ่งอัตราการเกิดโฟโตคะตะลิสต์นั้นจะเพิ่มมากขึ้นเมื่ออนุภาคโลหะออกไซด์มีขนาดเล็กกลง ซึ่งเป็นผลจากพื้นที่ผิวจำเพาะที่มากขึ้นของอนุภาคโลหะออกไซด์ (Specific Surface Area) [1]

กระบวนการทางโฟโตคะตะลิสต์ เป็นคุณสมบัติพิเศษที่เกิดขึ้นกับสารกึ่งตัวนำ และสารนาโนโลหะออกไซด์เป็นสารกึ่งตัวนำชนิดหนึ่ง ซึ่งในสารกึ่งตัวนำจะมีแถบพลังงานต่ำ (Valence Band, VB) และแถบการนำไฟฟ้า (Conduction Band, CB) อยู่ห่างกันเท่ากับความกว้างของแถบพลังงาน (Band Gap) ดังแสดงในรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 แสดงแถบพลังงานของสารกึ่งตัวนำ

ซึ่งความกว้างของแถบพลังงานในแต่ละสารก็มีค่าที่แตกต่างกัน ขึ้นกับคุณสมบัติของสารนั้นๆ โดยกระบวนการโฟโตคะตะลิสต์ เกิดขึ้นเมื่อฉายแสง หรือได้รับพลังงานในรูปของพลังงานโฟตอน (Photons Energy) ที่มากกว่าหรือเท่ากับความกว้างของแถบพลังงาน (Band Gap) ซึ่งเรียกพลังงานนี้ว่า พลังงานกระตุ้น (Activation Energy) สามารถคำนวณได้จาก [9]

$$E = hv = hc / \lambda \quad (2.1)$$

เมื่อ E คือ พลังงานโฟตอน (Photons Energy) หน่วย จูล

h คือ ค่าคงที่ของพลังค์ (Planck's Contant) =  $6.625 \times 10^{-34}$  หน่วย จูล-วินาที

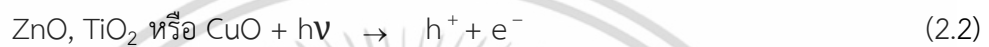
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$\nu$  คือ ความถี่ของคลื่นแสง หน่วย เฮิรตซ์ หรือ วินาที<sup>-1</sup>

$\lambda$  คือ ความยาวคลื่นแสง หน่วย นาโนเมตร

$C$  คือ ความเร็วของคลื่นแสง =  $2.997 \times 10^8$  หน่วย เมตร/วินาที

ซึ่งพลังงานที่ไปกระตุ้นระบบทำให้อิเล็กตรอน (Electron) ที่สถานะพื้นหรือที่แถบเวเลนซ์ถูกกระตุ้นไปยังแถบความนำไฟฟ้า ทำให้เกิดคู่อิเล็กตรอน ( $e^-$ ) และโฮล ( $h^+$ ) ซึ่งคู่อิเล็กตรอนโฮลจะทำปฏิกิริยากับออกซิเจน ( $O_2$ ) และน้ำ ( $H_2O$ ) ในระบบ ทำให้เกิดซูเปอร์ออกไซด์เรดิคัลแอนไอออน (Superoxide,  $O_2^-$ ) และไฮดรอกซิลเรดิคัล (Hydroxyl radical,  $OH^\bullet$ ) [2] ดังสมการที่ (2.2-2.4)

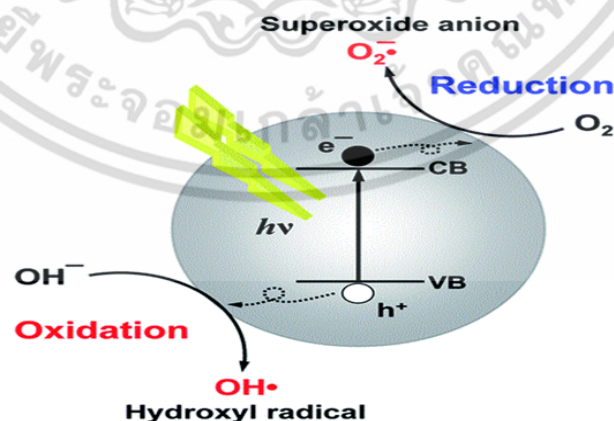


ซึ่งโฮลและอนุมูลที่เกิดขึ้นจะมีประสิทธิภาพสูงมากในการออกซิไดซ์ (High Oxidizing Power) สารอินทรีย์ (Organic Compound) อีกทั้งผลสุดท้ายยังเป็นออกไซด์ที่ดีเป็นสารที่ไม่เป็นพิษ ได้แก่ คาร์บอนไดออกไซด์ ( $CO_2$ ) ซึ่งกลไกการทำงานของสารเร่งปฏิกิริยาด้วยแสง ดังแสดงในรูปที่ 2.5

โดย VB คือ Valence Band

CB คือ Conduction Band

$h\nu$  คือ พลังงานโฟตอน



รูปที่ 2.5 แสดงการเกิดกระบวนการโฟโตคะตะลิสต์ หรือการเร่งปฏิกิริยาด้วยแสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.3.1 การเร่งปฏิกิริยาทางแสงของอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ผสม

การศึกษากลไกการเร่งปฏิกิริยาทางแสงของอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์เป็นเทคนิคที่นิยมนำมาประยุกต์ใช้อย่างต่อเนื่องและแพร่หลาย อีกทั้งงานวิจัยที่ผ่านมายังพบเทคนิคที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของกลไกการเร่งปฏิกิริยาทางแสงโดยใช้โลหะออกไซด์เจือด้วยโลหะอื่น เช่น การใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เจือกับ เงิน เหล็ก หรือดีบุก เป็นต้น ซึ่งพบว่าอนุภาคโลหะออกไซด์ที่ถูกเจือด้วยโลหะอื่นเข้าไปส่งผลให้การทำลายหรือการเป็นพิษต่อเชื้อแบคทีเรียมีประสิทธิภาพที่สูงขึ้น เพราะวอไอออนของเงินทำปฏิกิริยากับกำมะถัน ออกซิเจน และไนโตรเจน ซึ่งจะเป็นส่วนประกอบของโมเลกุลในเชื้อแบคทีเรีย ส่งผลทำให้เซลล์ของเชื้อแบคทีเรียแตกและเสียหาย ส่วนผนังเซลล์ก็ถูกทำลายได้ง่ายขึ้น [2] ซึ่งการเจือสารโลหะออกไซด์ด้วยการผสมโลหะอื่นเข้าไป จะทำให้โครงสร้างของสารโลหะออกไซด์เกิดตำหนิ ส่งผลให้พื้นที่ผิวของการย่อยสลายเพิ่มขึ้น นอกจากการเพิ่มประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยาแล้ว ยังพบว่าช่วยลดอัตราการรวมตัวกันของอิเล็กตรอน และโฮลลงอีกด้วย [17] ซึ่งใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์ผสมด้วยกราฟีนออกไซด์เพื่อฆ่าเชื้อแบคทีเรีย

ส่วนการเจือสารโลหะออกไซด์ผสมกับ  $Fe^{3+}$  มีงานวิจัยพบว่า สามารถเพิ่มประสิทธิภาพของการย่อยสลายได้ เนื่องจากไอออนของโลหะทรานซิชันจะเป็นตัวช่วยในการลดพลังงานของช่องว่าง (Band Gap Energy) ในสารโลหะออกไซด์สำหรับการฆ่าเชื้อนั่นเอง และยังทำให้ส่วนของการดูดกลืนแสงเลื่อนไปในช่วงความยาวคลื่นแสงที่ยาวขึ้น นั่นหมายถึง ความสามารถในการเกิดปฏิกิริยาจากช่วงแสงอัลตราไวโอเล็ตเปลี่ยนเป็นการเกิดปฏิกิริยาในช่วงความยาวคลื่นแสงที่ตามองเห็นได้ และเหตุผลของการเจือตัวเร่งปฏิกิริยาของโลหะออกไซด์ด้วยไอออนเหล็กยังพบว่า สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในกระบวนการย่อยสลายได้ดี [12] เหตุจากไอออนของเหล็ก เป็นตัวการไปขัดขวางการรวมตัวกันของอิเล็กตรอนกับโฮล เพื่อช่วยยืดเวลาในการรวมตัวกันให้นานขึ้น ทำให้อัตราการเกิดไฮดรอกซิลเรดิคอลลเพิ่มขึ้นจึงเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการออกซิไดซ์แบคทีเรีย [18] เป็นผลให้การประยุกต์ใช้สารโลหะออกไซด์ผสมกับโลหะอื่นเป็นที่นิยมอย่างมาก

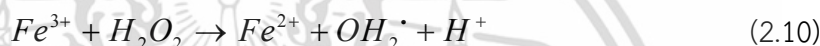
กระบวนการย่อยสลายของสารโลหะออกไซด์ผสมด้วยไอออนเหล็กสามารถเขียนในรูปของสมการให้เห็นได้ดังต่อไปนี้



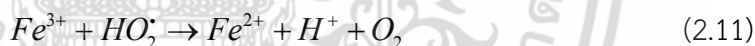
อีกทั้งยังพบการรายงานว่ากระบวนการย่อยสลายของสารโลหะออกไซด์ที่ผสมด้วยไอออนเหล็ก ทำให้เพิ่มอัตราการการย่อยสลายจากเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายด้วยแสง โดยขึ้นอยู่กับค่าเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอออนประจุจากไทเทเนียมไดออกไซด์ไปยังออกซิเจน ซึ่งไอออนของโลหะที่เกาะอยู่บริเวณช่วงบนของผิวหน้าตัวเร่งปฏิกิริยาจะเพิ่มอัตราการถ่ายโอนอิเล็กตรอนไปยัง  $O_2$  ( จากในสมการที่ 2.8 )

นอกจากนี้ยังพบอีกว่าความสามารถในการย่อยสลายของตัวเร่งปฏิกิริยาที่ผสมด้วยไอออนเหล็กมีการเกี่ยวเนื่องกับกลไกการย่อยสลายจาก Photo-Fenton Reaction นั่นคือ การแตกพันธะของโมเลกุลจากการดูดกลืนของพลังงานแสง ทำให้เกิดไฮดรอกซิลเรดิคัล เนื่องจากปฏิกิริยารีดอกซ์ของไอออนเหล็ก จาก Ferrous Iron (II) จะถูกออกซิไดซ์ด้วย  $H_2O_2$  ซึ่งจะได้ไฮดรอกซิลเรดิคัลที่สภาพความเป็นกรดโดยมีความสามารถในการออกซิไดซ์สูง จากกลไกดังกล่าวถูกนำมาประยุกต์ใช้กับสิ่งแวดล้อม และอุตสาหกรรม เพื่อช่วยการย่อยสลายมลพิษที่ถูกปนเปื้อนในน้ำบางชนิดได้ ซึ่งสามารถแสดงสมการของปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับ Photo-Fenton ได้ดังสมการที่ (2.9 – 2.10)



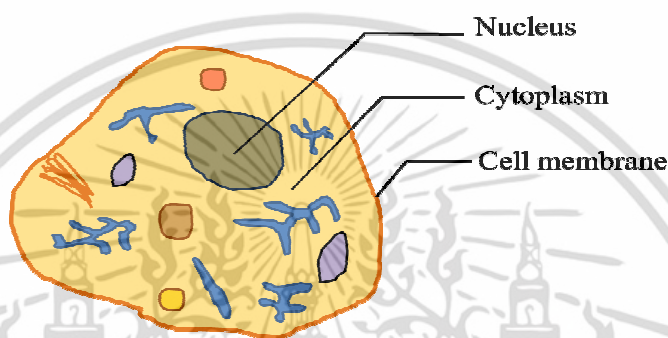
จากสมการที่ (2.9 – 2.10) เห็นได้ว่าจะเกิดไอออน  $Fe^{2+}$  และ  $Fe^{3+}$  ตลอดทั้งระบบ โดยไอออนที่พบ เกิดขึ้นจากหลายปฏิกิริยา จะแสดงให้เห็นในสมการที่ (2.11 – 2.13) ซึ่งหากในระบบยังมี  $H_2O_2$  อยู่ก็สามารถเกิดปฏิกิริยาไฮดรอกซิลเรดิคัลขึ้นในระบบได้ตลอดเวลา



จะเห็นได้ว่าการใช้สารโลหะออกไซด์เจือหรือผสมด้วยโลหะอื่นเข้าไป จะช่วยเพิ่มคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย อีกทั้งยังเพิ่มประสิทธิภาพในกระบวนการไฮดรอกซิลเรดิคัล รวมทั้งเพิ่มอนุมูลอิสระ ซึ่งสามารถย่อยสลายเชื้อแบคทีเรียทำให้ผนังเซลล์ถูกทำลายลงจนของเหลวภายในเซลล์รั่วไหล ทำให้เซลล์ตายในที่สุด นอกจากนี้ยังสามารถเพิ่มพื้นที่ผิวของตัวเร่งปฏิกิริยาเพื่อการดูดซับเชื้อแบคทีเรียได้ดีขึ้น ส่งผลให้อัตราการย่อยสลายเชื้อแบคทีเรียมีประสิทธิภาพดีขึ้นกว่าการใช้สารโลหะออกไซด์ชนิดเดียวแบบไม่ผสม

## 2.4 ธรรมชาติทั่วไปของเซลล์

เซลล์ คือ สิ่งมีชีวิตที่เล็กที่สุด หรือหน่วยที่เล็กที่สุดของสิ่งมีชีวิต ซึ่งเซลล์ต่างมีรูปร่างลักษณะ ขนาดและหน้าที่ ที่แตกต่างกันไปตามตำแหน่งที่อยู่ โดยเซลล์ของมนุษย์ที่มีขนาดใหญ่ที่สุดจะมีเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับขนาดของเส้นผม แต่โดยทั่วไปขนาดของเซลล์จะอยู่ที่ประมาณ 10 ไมครอน ซึ่งโดยธรรมชาติและพื้นฐานโครงสร้างที่สำคัญ เซลล์จะมีองค์ประกอบเหมือนกันอยู่ 3 ส่วน คือ เยื่อหุ้มเซลล์ (Cell membrane), ไซโทพลาซึม (Cytoplasm) และนิวเคลียส (Nucleus) ดังแสดงให้เห็นในรูปที่ 2.6



รูปที่ 2.6 แสดงโครงสร้างและส่วนประกอบของเซลล์

### 1) เยื่อหุ้มเซลล์

มีหน้าที่ ห่อหุ้มของเหลวภายในเซลล์เอาไว้ไม่ให้ของเหลวภายในไหลออกนอกเซลล์ หรือเป็นส่วนยึดจับให้เซลล์คงรูปร่างแข็งแรงและเป็นเซลล์อยู่ได้ เรียกได้ว่าเป็นตัวแสดงขอบเขตของเซลล์ รวมถึงการรักษาสมดุลของสารภายในเซลล์โดยการควบคุมการผ่านเข้าออกของสารต่างๆจากภายนอกเข้าสู่เซลล์ และจากภายในเซลล์ออกสู่ภายนอก เปรียบได้กับเครื่องตรวจจับและส่งสัญญาณคำสั่งต่างๆเข้าสู่เซลล์นั่นเอง

### 2) ไซโทพลาซึม

เป็นส่วนที่อยู่ภายในเซลล์ทั้งหมดยกเว้นนิวเคลียส มีลักษณะเป็นของเหลวประกอบด้วยน้ำ เป็นส่วนใหญ่ 75-90 เปอร์เซ็นต์ ส่วน 10-15 เปอร์เซ็นต์เป็นส่วนของ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และสารอนินทรีย์ ทำหน้าที่เก็บสะสมวัตถุดิบเพื่อให้เซลล์ได้รับพลังงาน หรือสังเคราะห์สารที่จำเป็นสำหรับเซลล์ โดยมีค่า pH อยู่ที่ 7.4 ถ้ามีน้ำน้อยเกินไปหรือมีค่าความเป็นกรดจะทำให้เซลล์เสื่อมสภาพและตายลง

### 3) นิวเคลียส

มีหน้าที่ เป็นตัวส่งข้อมูลรวมถึงคำสั่งที่ได้รับจาก DNA (Deoxyribonucleic Acid) เข้ามาภายในไซโทพลาซึม เพื่อสร้างโปรตีนที่จำเป็นให้กับเซลล์มีชีวิตดำรงอยู่ต่อไป โดยมีลักษณะรูปร่างกลมมีเยื่อหุ้ม 2 ชั้นล้อมรอบอยู่ เรียกว่า ซองนิวเคลียส (Nuclear envelope) ซึ่งเป็นส่วนที่คอยเอกสารนี้เป็นเอกสารที่ส่งวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ป้องกันอันตราย และจะไม่ยินยอมให้สารเคมีอื่นๆเข้ามาขัดขวางการทำงานของ DNA โดยข้างใน นิวเคลียสจะมีโครโมโซม (Chromosomes) อยู่ 23 คู่ หรือ 46 ชิ้น ซึ่งเป็นส่วนของโมเลกุล DNA นิวเคลียสจึงเปรียบได้ดังหัวใจ และสมองของเซลล์ หากส่วนนิวเคลียสนี้ถูกทำลายลงไป ความเป็นเซลล์ก็จบลง หรือเรียกได้ว่าเซลล์ตายนั่นเอง [19]

## 2.5 การลำเลียงสารเข้าสู่เซลล์

เซลล์จะมีคุณสมบัติในการแลกเปลี่ยนสารเข้าและออกสู่เซลล์ได้ เพื่อปรับและรักษาสภาพภายในเซลล์ให้สมดุลและเหมาะสม เพื่อสามารถดำรงชีวิตได้ตามปกติโดยแบบการผ่านและแบบไม่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งเยื่อหุ้มเซลล์สามารถเปลี่ยนแปลงรูปร่างโดยการรวมตัวหรือแยกตัว เพื่อลำเลียงสารหรือโมเลกุลขนาดใหญ่ผ่านเข้าออกสู่เซลล์ได้ ซึ่งประเภทของการลำเลียงสารเข้าและออกสู่เซลล์ จำแนกเป็น 2 ประเภทใหญ่ๆคือ

### 2.5.1 การลำเลียงสารโดยผ่านเยื่อหุ้มเซลล์

การลำเลียงสารโดยผ่านเยื่อหุ้มเซลล์จะแบ่งเป็น 2 ลักษณะ คือ

#### 2.5.1.1. การลำเลียงสารโดยไม่ใช้พลังงานจากเซลล์ (Passive Transport)

เป็นกระบวนการลำเลียงสารเข้าและออกสู่เซลล์ได้อย่างอิสระ โดยไม่อาศัยพลังงานของสารหรือโมเลกุล ATP (Adenosine Triphosphate) แต่ใช้การไหลผ่าน หรือการแพร่ของสารละลายจากความเข้มข้นน้อยไปสู่ความเข้มข้นที่มากกว่า แบ่งออกเป็น 3 กระบวนการ คือ

1. การแพร่ (Diffusion) คือ การเคลื่อนที่ของโมเลกุลหรือไอออนของสาร โดยใช้พลังงานจลน์ภายในโมเลกุลของสารเอง ซึ่งการแพร่จะเกิดขึ้นที่บริเวณส่วนความเข้มข้นสูงไปสู่บริเวณที่มีความเข้มข้นต่ำ ตลอดจนมีปริมาณความเข้มข้นเท่ากัน จึงจะเรียกลักษณะนี้ว่า เป็นการสมดุลจลน์ (Dynamic Equilibrium)

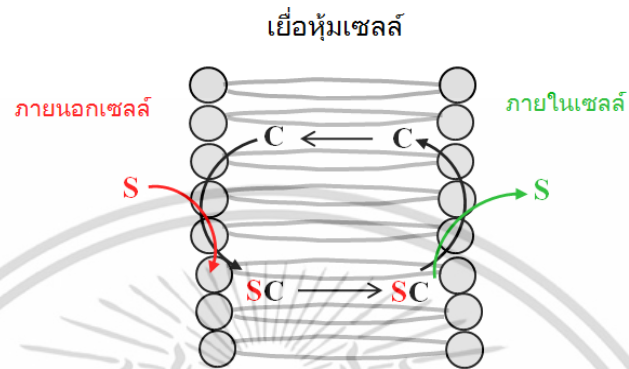
2. ออสโมซิส (Osmosis) คือ การเคลื่อนที่ของน้ำโดยผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ จากบริเวณของน้ำที่มีความหนาแน่นน้ำมาก หรือบริเวณของความเข้มข้นต่ำไปยังบริเวณที่มีความหนาแน่นน้ำน้อย หรือบริเวณของความเข้มข้นสูงตลอดจนถึงจุดสมดุลเซลล์ ซึ่งการออสโมซิสเป็นหนึ่งในปัจจัยที่ทำให้เซลล์เปลี่ยนแปลงรูปร่างได้

3. การแพร่แบบมีตัวพา (Facilitated Diffusion) คือ การเคลื่อนที่ของสารโดยอาศัยการเกาะไปกับโปรตีน โดยใช้โปรตีนเป็นตัวพา (Carrier) นำสารเข้าสู่เซลล์ ซึ่งเกิดการเคลื่อนที่จากบริเวณที่มีความเข้มข้นสูงไปยังบริเวณที่มีความเข้มข้นต่ำ โดยไม่ต้องอาศัยพลังงาน ATP จากเซลล์เลย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.5.1.2. การลำเลียงสารโดยใช้พลังงานจากเซลล์ (Active Transport)

เป็นกระบวนการลำเลียงสารเข้าและออกโดยการเคลื่อนที่ของโมเลกุลจากบริเวณที่มีความเข้มข้นต่ำไปยังบริเวณที่มีความเข้มข้นสูงโดยอาศัยโปรตีนเป็นตัวพา (Protein Carrier) และใช้พลังงาน ATP ในการนำพาสารเข้าสู่เซลล์ด้วย ดังแสดงในเห็นในรูปที่ 2.7



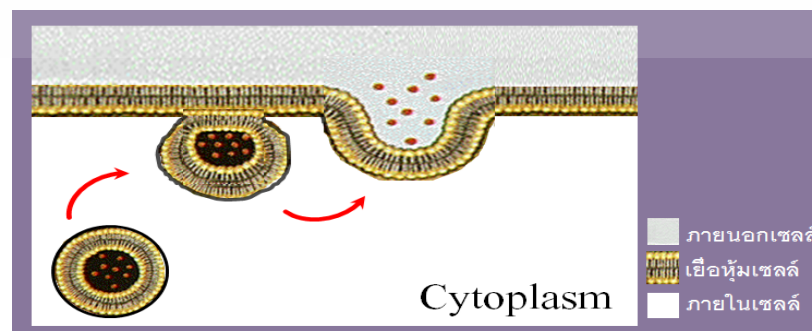
รูปที่ 2.7 แสดงการเคลื่อนที่ของสาร S ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์โดยอาศัยตัวพา C

### 2.5.2 การลำเลียงสารโดยไม่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์

การลำเลียงสารโดยไม่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ คือการลำเลียงสารโมเลกุลใหญ่เข้าหรือออกจากเซลล์ โดยการลำเลียงสารโมเลกุลใหญ่ไม่สามารถผ่านเยื่อหุ้มเซลล์หรือโปรตีนในเยื่อหุ้มเซลล์ได้โดยตรง เซลล์จึงจำเป็นต้องมีคุณสมบัติในการลำเลียงสารโมเลกุลใหญ่ ด้วยวิธีการการสร้างเวสิเคิล (Vesicle) จากเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งเยื่อหุ้มเซลล์มีสมบัติในการรวมตัวหรือแยกตัวออก เพื่อสร้างเวสิเคิลล้อมรอบสารโมเลกุลใหญ่และเข้าสู่กระบวนการลำเลียงสารเข้าสู่เซลล์ โดยแบ่งออกเป็น 2 แบบ คือ

#### 2.5.2.1 เอกไซโทซิส (Exocytosis)

เป็นการลำเลียงสารโมเลกุลใหญ่ออกจากเซลล์ ซึ่งสารที่ถูกลำเลียงออกจะบรรจุอยู่ในเวสิเคิลภายในเซลล์แล้วจะค่อยๆเคลื่อนตัวมายังบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ เพื่อเข้ามาเชื่อม และรวมตัวกันกับเยื่อหุ้มเซลล์ จากนั้นสารที่อยู่ภายในเวสิเคิลก็จะถูกปล่อยออกสู่ภายนอกเซลล์ ดังแสดงให้เห็นในรูปที่ 2.8



รูปที่ 2.8 แสดงการลำเลียงสารโมเลกุลใหญ่ออกจากเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้จัดทำเห็นว่าไม่เหมาะสมกับการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

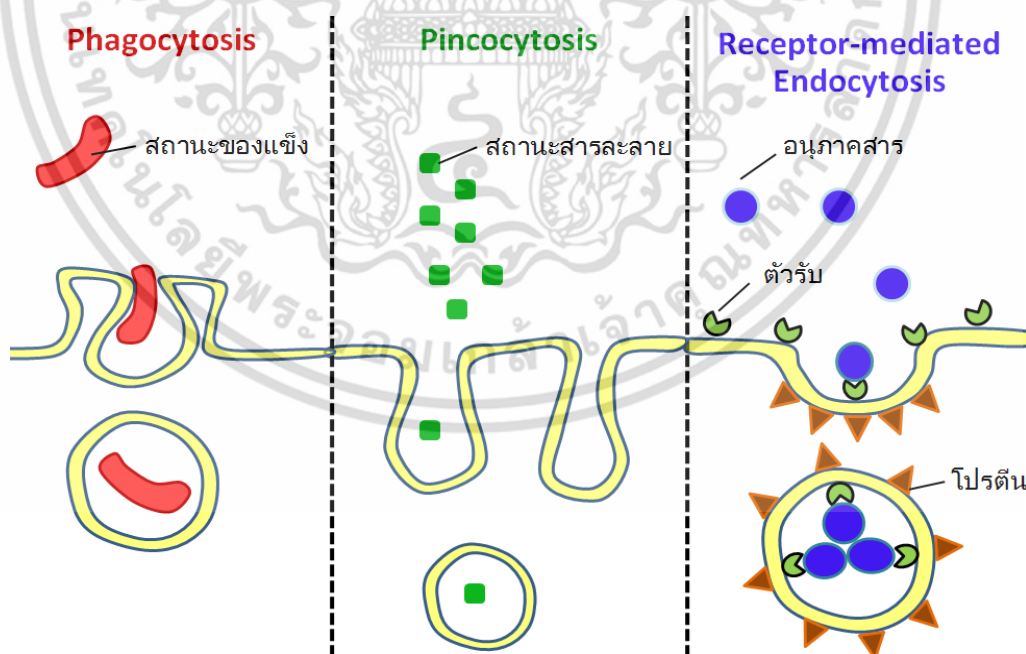
### 2.5.2.2 เอนโดไซโทซิส (Endocytosis)

เป็นการลำเลียงสารที่ตรงกันข้ามกับเอกไซโทซิส คือ เป็นการลำเลียงสารโมเลกุลใหญ่เข้ามาสู่ภายในเซลล์โดยแบ่ง 3 แบบ ดังแสดงให้เห็นในรูปที่ 2.9 คือ

1) ฟาโกไซโทซิส (Phagocytosis) เป็นการลำเลียงสารโมเลกุลใหญ่ที่อยู่ในสถานะของแข็งเข้าสู่เซลล์ โดยเซลล์จะยื่นส่วนของไซโทพลาซึมออกมาล้อมอนุภาคสารโมเลกุลใหญ่เพื่อที่จะนำเข้าสู่เซลล์ในรูปของเวสิเคิล จากนั้นจะรวมตัวกันภายในเซลล์เพื่อย่อยสลายสารอาหารในเวสิเคิลด้วยเอนไซม์ภายใน หรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า การกินของเซลล์ (Cell Eating)

2) พิโนไซโทซิส (Pinocytosis) เป็นการลำเลียงสารโมเลกุลใหญ่ที่อยู่ในสถานะของเหลวหรือเรียกว่าสารละลายเข้าสู่เซลล์ โดยการทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เว้าเข้าไปในไซโทพลาซึมจนค่อยๆ กลายเป็นเวสิเคิล เมื่อเยื่อหุ้มเซลล์ปิดสนิทเวสิเคิลที่ล้อมสารละลายไว้ จะหลุดเข้าไปอยู่ในไซโทพลาซึม หรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า การดื่มของเซลล์ (Cell Drinking)

3) การนำสารเข้าสู่เซลล์โดยอาศัยตัวรับ (Receptor – mediated - Endocytosis) เป็นการลำเลียงสารโมเลกุลใหญ่เข้าสู่ภายในเซลล์ ซึ่งเกิดขึ้นได้โดยมีโปรตีนที่บริเวณผิวของเยื่อหุ้มเซลล์เป็นตัวรับ (Protein Receptor) ซึ่งสารที่ถูกลำเลียงเข้าสู่เซลล์ด้วยวิธีนี้จะต้องมีความจำเพาะในการจับกับโปรตีนตัวรับที่อยู่บริเวณบนผิวของเยื่อหุ้มเซลล์ จึงจะลำเลียงสารนั้นเข้าสู่เซลล์ได้



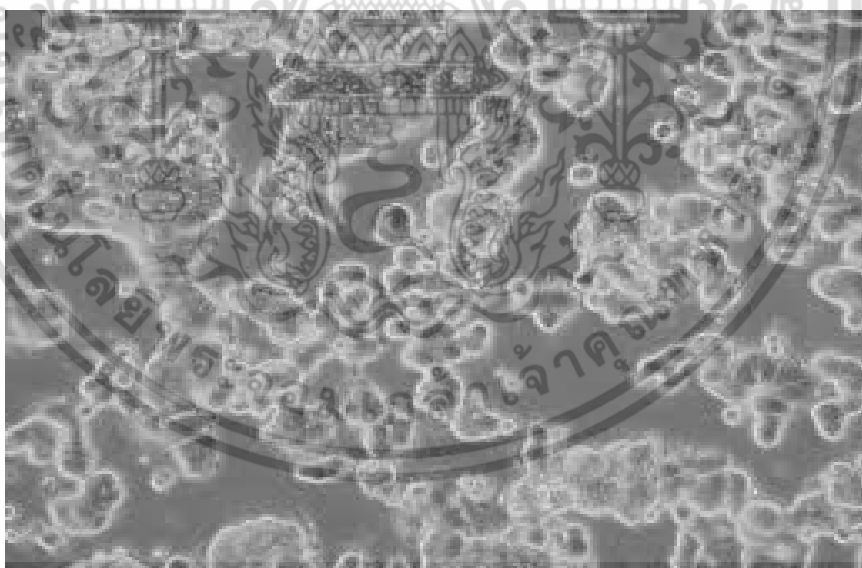
รูปที่ 2.9 แสดงการลำเลียงสารเข้าสู่เซลล์ของเอนโดไซโทซิสทั้ง 3 แบบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.6 เซลล์ไลน์

เซลล์ไลน์ คือ เซลล์ที่เพาะเลี้ยงเองโดยมนุษย์ สามารถเจริญเติบโตได้ซึ่งอยู่ภายนอกร่างกายของสิ่งมีชีวิต และเพิ่มจำนวนอย่างต่อเนื่องได้โดยไม่จำกัด ซึ่งเซลล์ทุกเซลล์ที่อยู่ในเซลล์ไลน์ชนิดเดียวกัน จะมีลักษณะที่เหมือนกันทุกประการคือเป็นโคลน (Clone) ของกันและกัน ส่วนเซลล์ไลน์ที่ต่างชนิดกัน จะมีลักษณะบางอย่างที่แตกต่างกันไป เพื่อแยกชนิด หรือมีความเป็นจำเพาะเจาะจงในเซลล์ไลน์แต่ละชนิดนั้นๆ การเพาะเลี้ยงเซลล์ไลน์ เกิดขึ้นเพื่อเป็นประโยชน์สำหรับการประยุกต์ใช้ในการงานการศึกษาทั้งทางด้านอณูชีววิทยา (Molecular Biology) รวมถึงการศึกษาเซลล์ที่เจริญเติบโตไปแบบผิดปกติจากเซลล์เดิม เช่น เซลล์มะเร็ง โดยนิยมทำการเพาะเลี้ยงเพื่อนำไปวิจัยและวิเคราะห์ถึงการอยู่รอดของเซลล์โดยรวมถึงการทำลายเซลล์มะเร็งด้วย เช่นกัน

ซึ่งในงานวิจัยฉบับนี้ ใช้เซลล์ไลน์มะเร็งเต้านมของมนุษย์ (Human Breast Carcinoma Cell Line: MCF-7) เป็นเซลล์ชนิดเกาะติดพื้นผิว (Monolayer Cell) โดยการเพาะเลี้ยงต้องใช้ภาชนะที่รองรับการเกาะขยายเพื่อการเจริญเติบโต โดยมีลักษณะเป็นแผ่นชั้นเดียวเกาะบนพื้นผิวของภาชนะ ซึ่งจะเจริญเติบโตโดยการแบ่งเซลล์ไปชนกันกับเซลล์ข้างๆ และเพิ่มจำนวนโดยการแบ่งตัวออกไปเรื่อยๆ ดังแสดงลักษณะของเซลล์ในรูปที่ 2.10



รูปที่ 2.10 เซลล์ไลน์มะเร็งเต้านมของมนุษย์ ชนิด MCF-7

ซึ่งสายพันธุ์มะเร็งเต้านมของมนุษย์ (MCF-7) ถูกแยกเพื่อเพาะเลี้ยงได้ครั้งแรกในปี พ.ศ. 2513 หรือ ค.ศ. 1970 จากหญิงชรา Caucasian วัย 69 ปี [20] โดยการเพาะเลี้ยงเซลล์แบบเกาะพื้นผิวของภาชนะ เพื่อใช้ในการวิจัยคัดค้นการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านม และเป็นประโยชน์ต่อ

การศึกษาเพื่อใช้ในการรักษาโรคมะเร็งเต้านมจวบจนปัจจุบัน  
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.7 การนับจำนวนเซลล์เหลือรอดจากการทดลอง

การทราบจำนวนเซลล์นับว่าเป็นสิ่งสำคัญมากในการตรวจวัดผลจากการทดลอง เราจึงจำเป็นต้องนับเซลล์ที่เหลือรอด หรือเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่หลังจากผ่านกระบวนการทำลายเซลล์มะเร็งถึงขั้นสุดลง เพื่อดูผลสัมฤทธิ์จากการทดลอง

การนับจำนวนเซลล์โดยตรง (Direct Cell Count) เป็นการนับเซลล์โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ โดยมนุษย์สามารถตรวจนับได้โดยตรง (Direct Microscope Count) ซึ่งมีอยู่ 2 วิธีด้วยกันคือ วิธี Breed's Method และ วิธี Petroff-Hausser Counting Chamber

### 1. วิธี Breed's Method

คือ การหาขนาดของ Microscope Field จาก Stage Micrometer และ Ocular Micrometer ซึ่งจะได้ค่ารัศมี (r) แล้วนำมาค่าเส้นผ่าศูนย์กลาง จาก

$$\text{Microscope Field} = \pi r^2 \quad (2.14)$$

โดยสมการที่ 2.15 ทำให้ทราบค่าพื้นที่ของ Microscope Field ซึ่งจำนวนของ field ในพื้นที่ ปริมาตร 1 ตร.ซม. = 1/พื้นที่ของ Microscope Field จากนั้นทำการหยดปริมาตรสารเชื้อ 0.01 มิลลิลิตร ต่อด้วยการนับจำนวนเซลล์ ถ้าได้จำนวน Xเซลล์ ก็นำมาคูณกับจำนวนของfield และหาร ด้วยปริมาตรเชื้อ 0.01 มิลลิลิตร [21]

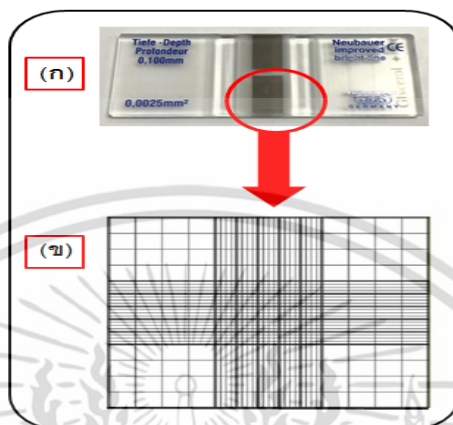
$$\begin{aligned} \text{ยกตัวอย่างเช่น ถ้าจำนวน Field มีทั้งหมด 5000 field} &= (5000) \times \text{เซลล์} \\ \text{และหยอดปริมาตรเชื้อ 1 มล.จะมีเซลล์} &= (5000) \times \text{เซลล์} / 0.01 \\ \text{จะได้จำนวนเซลล์} &= 500,000 \times \text{เซลล์} / \text{มล.} \end{aligned}$$

### 2. วิธี Petroff-Hausser Counting Chamber

คือ การนับจำนวนเซลล์เซลล์โดยมีอุปกรณ์ ซึ่งเริ่มจากการหยดสารละลายที่มีเซลล์อยู่เพื่อ บรรจุสารลงบนอุปกรณ์ ซึ่งอุปกรณ์สำหรับการนับจำนวนเซลล์นั้นคือ ฮีมาไซโตมิเตอร์ (Hemocytometer) โดยมีลักษณะเป็นแผ่นแก้วหนาและมีแผ่นสไลด์ปิดประกบ (Cover Glass) แสดงให้เห็นในรูปที่ 2.11(ก) โดยมีช่องว่างสำหรับใส่สารตัวอย่างเรียกว่าแชมเบอร์ (Chamber) และภายในแชมเบอร์ประกอบไปด้วยตารางหรือกริด (Grid) ที่มีลักษณะเป็น เส้นตรงตั้งฉากกันหลายเส้นแบ่งออกเป็น 9 ช่องใหญ่ ถูกสร้างขึ้นด้วยเลเซอร์เพื่อแบ่งเป็น พื้นที่ของการนับเซลล์ [19] แต่ละช่องมีความกว้าง 1 มิลลิเมตร มีความยาว 1 มิลลิเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

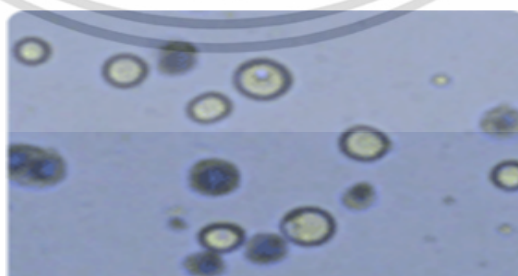
และเมื่อบรรจุสารตัวอย่างแล้วปิดประกบด้วยแผ่นสไลด์ จะมีความลึกอยู่ที่ 0.1 มิลลิเมตร [22] ซึ่งสามารถนำมาคำนวณปริมาตรของเซลล์จากสารที่บรรจุได้โดยใช้สมการ กว้าง×ยาว×สูง ตามปกติ หน่วยที่ได้จะเป็น (เซลล์ต่อมิลลิเมตร) นั่นคือ  $1/10,000$  หรือ  $1/10^4$  เซลล์ต่อมิลลิเมตร แสดงภาพของตาราง หรือกริดให้เห็นในรูปที่ 2.11(ข)



รูปที่ 2.11(ก) ฮีมาไซโตมิเตอร์ (Hemacytometer)

รูปที่ 2.11(ข) แคมเบอร์ (Chamber) ภายในฮีมาไซโตมิเตอร์

ซึ่งการนับเซลล์จะต้องอาศัยกล้องจุลทรรศน์ในการช่วยขยายขนาดของเซลล์โดยใช้กำลังขยายอยู่ที่ 40 เท่า แล้วให้ผู้สังเกตมองผ่านกล้องจุลทรรศน์โดยทำการนับจำนวนเซลล์เหลือรอดจากกล้องจุลทรรศน์ได้โดยตรง ในส่วนการแยกเซลล์เป็นหรือเซลล์ตาย ในขั้นตอนนี้ต้องใช้สีย้อมทริปแพนบลู (Trypan Blue) ซึ่งเป็นสียชนิด Dye Exclusionic ทำหน้าที่เป็นตัวย้อมเซลล์เพื่อคัดกรองเซลล์เป็นกับเซลล์ตาย ซึ่งหากเซลล์ที่เหลือรอดหรือยังมีชีวิตอยู่ ผนังเซลล์จะทำหน้าที่อย่างเข้มงวดคือไม่ยินยอมให้สิ่งแปลกปลอมหรือสีย้อมเข้าสู่เซลล์ได้ ส่วนเซลล์ที่ตายแล้ว สีย้อมทริปแพนบลูจะซึมเข้าสู่เซลล์ในทันที ทำให้กระบวนการตรวจนับเซลล์เหลือรอดจากการทดลองสังเกตได้อย่างชัดเจน แสดงให้เห็นในรูปที่ 2.12



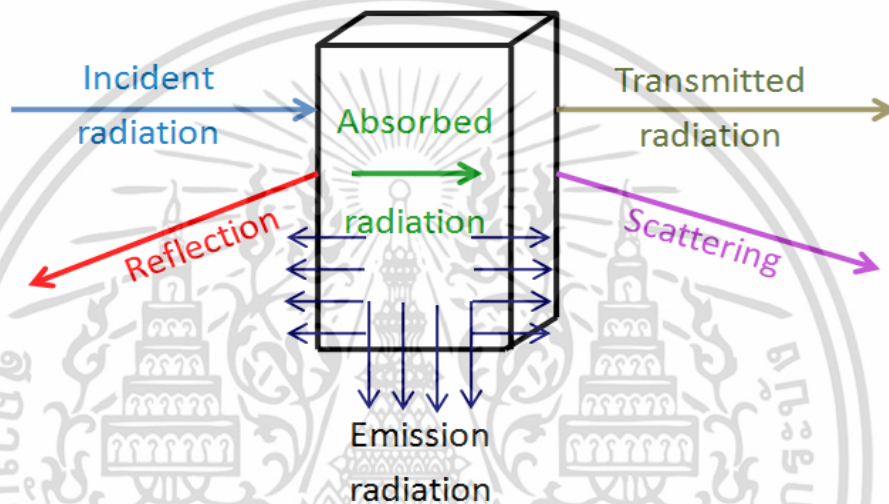
รูปที่ 2.12 เซลล์เหลือรอด (มีลักษณะโปร่งแสง)

และเซลล์ตาย (มีลักษณะทึบแสงจากทริปแพนบลู) ขนาดเซลล์เฉลี่ย 20 ไมโครเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

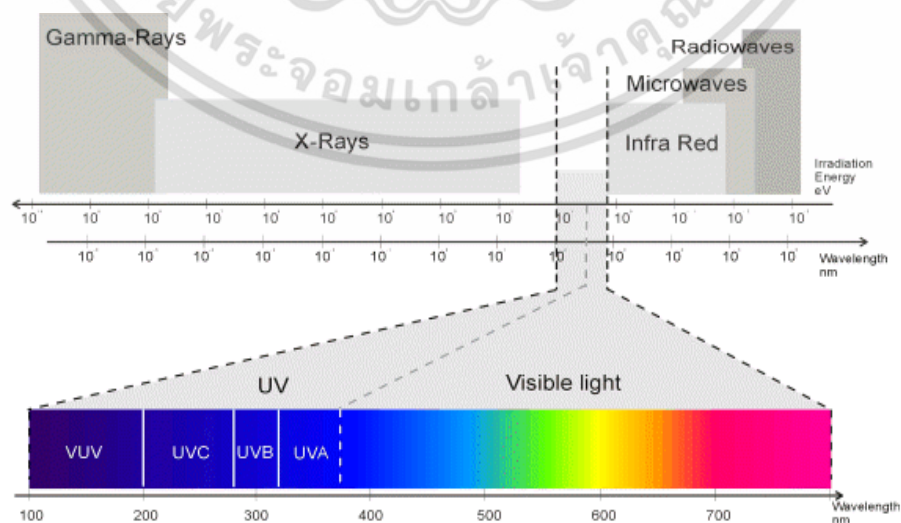
## 2.8 หลักการทางสเปกโทรสโกปี

การวัดการดูดกลืนแสงในที่นี้ใช้หลักการทางสเปกโทรสโกปี นั่นคือ กระบวนการแยกแสงเพื่อตรวจสอบและบันทึกพลังงานที่เปลี่ยนไป เกี่ยวเนื่องกับนิวเคลียส อะตอม ไอออน หรือโมเลกุลของสารที่ทำการตรวจวัด โดยใช้เทคนิควัดการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเล็ต (Ultraviolet: UV) และแสงวิสิเบิล (Visible light: Vis) ซึ่งกระบวนการนี้เกิดขึ้นเมื่อแสงเดินทางไปกระทบสารตัวอย่าง จะทำให้พลังงานเปลี่ยนไปเนื่องจากเกิด การเปล่งแสง (Emission) การดูดกลืน (Absorption) และการกระเจิง (Scattering) ดังแสดงในรูปที่ 2.13



รูปที่ 2.13 แสดงลำแสงเมื่อกระทบตัวอย่าง

โดยแสงที่ใช้ในหลักการทางสเปกโทรสโกปีอยู่ในช่วงความยาวคลื่น 100-800 นาโนเมตร นั่นคือย่านแสงอัลตราไวโอเล็ต และแสงวิสิเบิล ดังแสดงในรูปที่ 2.14



รูปที่ 2.14 แสดงสเปกตรัมของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าและความยาวคลื่นแสง [23]

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์ของโรงเรียนเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ผู้ใดเห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งสารตัวอย่างในการทดลองของงานวิจัยฉบับนี้มีความยาวคลื่นจากการดูดกลืนแสงที่สัมพันธ์กับย่านแสงอัลตราไวโอเล็ต และแสงวิสิเบิล ดังนั้นหลักการทางสเปกโทรสโกปีจึงเป็นกระบวนการวิเคราะห์ที่สำคัญ อีกทั้งยังให้ความถูกต้องแม่นยำต่อผลการทดลอง และ เทคนิคการวัดค่าการดูดกลืนแสงจึงจำเป็นต้องมีเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ผล ซึ่งสามารถวิเคราะห์ได้ทั้งเชิงปริมาณ และเชิงคุณภาพเป็นอย่างดี หลักการทางสเปกโทรสโกปีจึงมักเป็นที่นิยมใช้ และเป็นที่ยึดกันตัวอย่างกว้างขวาง

## 2.9 ความสัมพันธ์ระหว่างการดูดกลืนแสงกับค่าความเข้มข้น

ค่าของการดูดกลืนแสงของสารแต่ละชนิดมีค่าความยาวคลื่นที่แตกต่างกัน ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงเป็นคุณสมบัติเฉพาะของสารแต่ละชนิด และปริมาณแสงที่ถูกดูดกลืนไม่ได้ขึ้นกับความเข้มข้นของแสงที่ตกกระทบแต่ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารตัวอย่าง นั่นหมายความว่า ค่าการดูดกลืนแสงจะแปรผันตรงกับปริมาณของความเข้มข้น ซึ่งเป็นไปตามกฎของเบียร์ (Beer's Law)

$$A \propto C \quad (2.15)$$

เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance)

C คือ ความเข้มข้นของตัวอย่าง ( $\text{g.L}^{-1}$ )

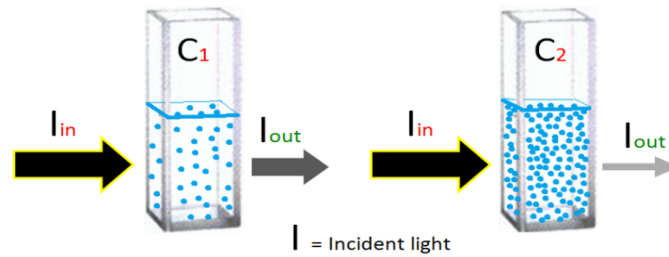
ส่วนแลมเบิร์ต กล่าวว่า "ถ้าความกว้างของระยะทางแสงเพิ่มขึ้น การที่แสงเดินทางผ่านสารละลาย ค่าการดูดกลืนแสงจะมากขึ้นตามสัดส่วน" นั่นแสดงถึง ค่าดูดกลืนแสงของสารละลายจะแปรผันตามความกว้างของสารละลายที่แสงเดินทางผ่าน กฎของแลมเบิร์ต (Lambert's Law)

$$l \propto A \quad (2.16)$$

เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance)

l คือ ระยะทางที่แสงส่องผ่านตัวอย่าง (Path Length)

เมื่อวัดสารตัวอย่างมีค่าความเข้มข้นไม่เท่ากัน เช่น  $C_2 > C_1$  ดังแสดงให้เห็นที่รูปที่ 2.15



รูปที่ 2.15 แสดงแสงเดินทางผ่านความเข้มข้นต่างๆ

จากรูปที่ 2.15 เมื่อแสงเดินทางผ่านเข้าสู่สารละลาย  $C_2$  ซึ่งมีความเข้มข้นมากกว่า  $C_1$  แสงที่ออกจาก  $C_2$  จะมีค่าน้อยกว่าแสงที่ออกจาก  $C_1$  เนื่องจากสารที่มีความเข้มข้นสูงจะมีโมเลกุลที่ดูดซับแสงอยู่มากกว่า ซึ่งปริมาณความเข้มข้นของแสงที่ดูดกลืนจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารละลาย และระยะทางที่แสงเดินทางผ่านหรือความหนาของสารตัวอย่าง จึงจำเป็นต้องรวมกฎของเบียร์ และแลมเบิร์ตเข้าด้วยกัน เรียกว่า (Beer-Lambert law) ความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสง และความเข้มข้นของสารละลาย (absorbance and concentration) มีความสำคัญในเชิงการวิเคราะห์ โดยมีความสัมพันธ์ ดังสมการที่ 2.17

$$A = \epsilon cl \quad (2.17)$$

เมื่อ  $A$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสาร (Absorbance)

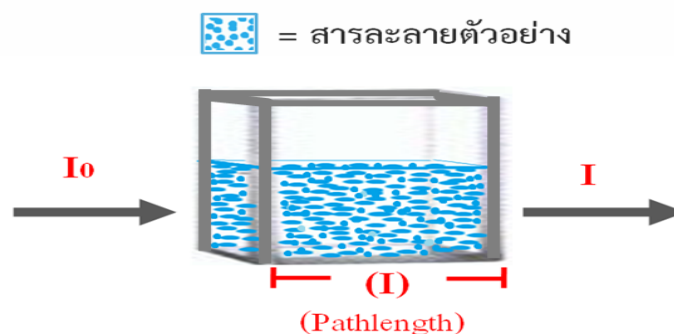
$\epsilon$  คือ คุณสมบัติเฉพาะตัวของสารดูดกลืน และวัดความยาวได้ค่าหนึ่ง เรียกว่า Molar Absorptivity ( $L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )

$l$  คือ ระยะทางที่แสงผ่านสารตัวอย่าง (cm)

$c$  คือ ความเข้มข้น หน่วยเป็น โมล/ลิตร หรือโมลาร์ (M)

### 2.9.1 การวัดค่าการดูดกลืนแสง

การวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง สามารถวัดค่าการดูดกลืนโดยการให้ลำแสงส่องผ่านไปยังตัวอย่าง (Incident Light:  $I_0$ ) แล้วทำการตรวจวัดแสงที่เหลือรอด หรือผ่านออกมาจากสารตัวอย่าง ( $I$ ) โดยเปรียบเทียบกับแสงที่ส่องผ่านออกมาโดยไม่ผ่านสารตัวอย่าง แสดงดังรูปที่ 2.16



รูปที่ 2.16 แสดงลำแสงที่ผ่านเข้าและออกจากสารละลายกำหนด ความเข้มข้น (C) มีระยะทาง (l) เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับวิชาการเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 2.16 สามารถหา Transmittance (T) จากสัดส่วนของปริมาณแสงที่ออกมา (I) ต่อปริมาณแสงที่ผ่านเข้าไปในสารตัวอย่าง ( $I_0$ ) ดังสมการที่ 2.18

$$T = \frac{I}{I_0} \quad (2.18)$$

ค่าการดูดกลืนแสงของสาร (Absorbance: A) เขียนสมการได้เป็น

$$A = \log \frac{I_0}{I} = -\log T \quad (2.19)$$

โดยทั่วไปจะหาค่า Transmittance เป็นรูปของเปอร์เซ็นต์ (%T) ดังสมการต่อไปนี้

$$A = 2 - \log \%T \quad \%T = 100 \frac{I}{I_0} \quad (2.20)$$

$$\log \%T = \log 100 \frac{I}{I_0} \quad (2.21)$$

$$\log \%T = 2 + \log \frac{I}{I_0} \quad (2.22)$$

$$\log \%T = 2 - A \quad \text{หรือ} \quad A = 2 - \log \%T \quad (2.23)$$

จากสมการจะเห็นว่า T มีค่าอยู่ในช่วง 0-1 และ %T มีค่าตั้งแต่ 0-100 ส่วนค่า A = 0 เมื่อแสงที่เดินผ่านเข้าไปในตัวอย่าง แต่ไม่ถูกดูดกลืนไว้และผ่านออกมา 100%

## 2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Md. Abdulla-Al-Mamun และคณะ (2009, 2552) ได้ทำการศึกษาวิจัยในหัวข้อเรื่อง “การเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการโฟโตคะตะลิสต์โดยใช้  $Ag@TiO_2$  สำหรับการฆ่าเซลล์มะเร็ง [24]” โดย Md. Abdulla-Al-Mamun และคณะ ได้ทำการทดสอบการฆ่าเซลล์มะเร็งปากมดลูกด้วยกระบวนการโฟโตคะตะลิสต์ภายใต้แสง UV-visible โดยใช้สาร  $Ag@TiO_2$  ซึ่งมีแก่นกลางเป็น Ag และ  $TiO_2$  ที่เป็นกลุ่มเกาะอยู่ภายนอก โดยการนำ  $Ag@TiO_2$  มาทดสอบด้วยวิธีการพื้นฐานของ Citrate Reduction ในการเตรียมสาร เพื่อให้ได้สารที่มีคุณลักษณะที่มีขนาดเท่าๆกัน และได้รูปร่าง

เอกลักษณะเหมือนกัน โดย Md. Abdulla-Al-Mamun และคณะ ได้ผลสรุปว่า  $Ag@TiO_2$  สามารถฆ่าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลล์มะเร็งปากมดลูกได้ 100% ขณะที่  $\text{TiO}_2$  อย่างเดียว สามารถกำจัดเซลล์มะเร็งปากมดลูกไปได้แค่ 25% เท่านั้น ที่ความเข้มข้นของสารเท่ากัน

Jincheng Liuet และคณะ (2011, 2554) ได้ทำการศึกษาวิจัยในหัวข้อเรื่อง “การสังเคราะห์กราฟีนออกไซด์ร่วมกับแท่งนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ ด้วยกระบวนการโฟโตคะตะลิสต์เพื่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย [17]” ซึ่งได้ทำการศึกษาผลการต่อต้านและยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย โดยใช้กระบวนการทางโฟโตคะตะลิสต์ ของกราฟีนออกไซด์-แท่งนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ เทียบกับอนุภาคนาโนของไททาเนียมไดออกไซด์ โดยได้ผลสรุปว่า แท่งนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ ที่ถูกกระตุ้นด้วยแสง UV ที่ความยาวคลื่น 254 nm จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้มากกว่าอนุภาคนาโนของไททาเนียมไดออกไซด์ ภายใต้การใช้แสงอาทิตย์ที่มีขนาดและรัศมีเท่ากัน อีกทั้งยังพบว่า ประสิทธิภาพของการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยใช้กระบวนการทางโฟโตคะตะลิสต์จะดียิ่งขึ้นเมื่อนำแท่งนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ ไปรวมเข้ากับกราฟีนออกไซด์ ( $\text{GO-TiO}_2$  NRCs) โดยพบว่าการเกิดปรากฏการณ์โฟโตคะตะลิสต์ได้ดีขึ้นกว่าการใช้ แท่งนาโนไททาเนียมไดออกไซด์เพียงอย่างเดียว

ชลดา อีรการุณวงศ์ (2555) ได้ทำการศึกษาวิจัยในหัวข้อเรื่อง “วัสดุนาโนไททาเนียมไดออกไซด์: การสังเคราะห์ โครงสร้าง และการประยุกต์ใช้ [25]” ซึ่งในงานวิจัยนี้มุ่งหมายทบทวนบทความเกี่ยวกับวัสดุนาโนไททาเนียมไดออกไซด์แต่ละขนาดและโครงสร้างการผลิตว่าเหมาะสมกับการประยุกต์ใช้งานในด้านใด ซึ่ง ชลดา อีรการุณวงศ์ ยังกล่าวว่า การจะได้ไททาเนียมไดออกไซด์ ที่มีขนาด โครงสร้างต่างๆ ขึ้นอยู่กับวิธีการสังเคราะห์ และ สภาพที่ใช้ในการสังเคราะห์ ซึ่งพบว่าการเจือโลหะอื่นๆ เข้าไปในไททาเนียมไดออกไซด์ จะเป็นการปรับปรุงคุณสมบัติด้านการดูดกลืนแสง และยังพบว่าสามารถขยายช่วงของการดูดกลืนแสงจากไททาเนียมไดออกไซด์ไปในช่วงแสงที่ตามองเห็นได้ ซึ่งเป็นย่านที่แสงอาทิตย์มีความเข้มข้นสูงสุด เมื่อถูกเจือด้วยธาตุบางชนิดที่เหมาะสม ซึ่งกระบวนการเจือโลหะอื่นเข้าไปด้วยนี้ เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายมลพิษอินทรีย์ได้ดีขึ้น อีกทั้งยังทำให้โครงสร้างของวัสดุนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ที่ถูกผสมมีพื้นที่ผิว และความเป็นรูพรุนสูงกว่าไททาเนียมไดออกไซด์ จึงสามารถดูดซับสารอินทรีย์ได้เพิ่มขึ้น ทำให้ความสามารถในการย่อยสลายมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นตามไปด้วย และยังพบว่านอกจากไททาเนียมไดออกไซด์จะเจือด้วยโลหะทรานซิชันแล้ว ยังพบว่าสามารถเจือด้วยโลหะ เช่น ท่อนาโนคาร์บอนได้อีกด้วย ซึ่งทำให้ไททาเนียมไดออกไซด์สามารถนำไฟฟ้าได้ด้วย

ศศิมา จันสุ และ ชวีตา สุวรรณขวลิต (2557) ได้ทำการศึกษาวิจัยในหัวข้อเรื่อง “การสังเคราะห์คอปเปอร์(I)ออกไซด์-ไทเทเนียมไดออกไซด์โพโตคะตะลิสต์ และสมบัติการเป็นสารเร่งปฏิกิริยาด้วยแสง [26]” ซึ่งในงานวิจัยนี้กล่าวว่า การนำไทเทเนียมไดออกไซด์มาใช้งานยังมีขีดจำกัดในเรื่องของช่วงแสงยูวี ซึ่งเป็นส่วนประกอบของแสงอาทิตย์เท่านั้น เนื่องจาก ไทเทเนียมไดออกไซด์มีแถบพลังงานกว้าง (3.2 eV) จึงนำมาสู่การปรับปรุงพัฒนาประสิทธิภาพของการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาภายใต้การใช้แสงของ  $\text{TiO}_2$  ให้ใช้งานได้ภายใต้แสงวิสิเบิล ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของแสงอาทิตย์ได้ โดยทำการเจือโลหะทรานซิชัน Fe, Cr, Cu หรือโลหะพวก S, N, F ลงในโครงผลึก โดยสามารถสังเคราะห์คอปเปอร์(I) ออกไซด์-ไทเทเนียมไดออกไซด์ ( $\text{Cu}_2\text{O-TiO}_2$ ) ด้วยวิธีตกตะกอนร่วม (Co-Precipitation) เพื่อใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาด้วยแสง ภายใต้แสงของช่วงแสงวิสิเบิล และนำสารที่สังเคราะห์ได้ มาวิเคราะห์ด้วยเทคนิค (SEM), (XRD), (FT-IR), (DRS), (BET) และ (XPS) ซึ่งพบว่า  $\text{Cu}_2\text{O}$  สามารถเลื่อนช่วงการดูดกลืนแสงของไทเทเนียมไดออกไซด์ ให้เข้ามาอยู่ในช่วงวิสิเบิลได้ดีขึ้น และได้ทดสอบประสิทธิภาพของโพโตคะตะลิสต์จากการสลายสารอินทรีย์ โดยใช้ออเรนจ์ II เป็นสารทดสอบ พบว่า  $\text{Cu}_2\text{O-TiO}_2$  สามารถทำให้เกิดการสลายตัวของสารละลายออเรนจ์ II ได้สูงสุดถึง 99.5 เปอร์เซ็นต์ และสูงเป็น 5 เท่าเมื่อเทียบกับ Degussa P25- $\text{TiO}_2$  ซึ่งเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่นิยมใช้กันทั่วไป

Joanna Podporska - Carroll และคณะ (2017, 2560) ได้ทำการศึกษาวิจัยในหัวข้อเรื่อง “การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยคุณสมบัติโพโตคะตะลิสต์โดยใช้ F-doping ZnO ภายใต้แสงวิสิเบิล [27]” ในงานวิจัยของ Joanna Podporska - Carroll และคณะของพวกเขา ศึกษาการยับยั้งของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก และแกรมลบ ซึ่งถูกเตรียมไว้ในรูปของสารละลาย 2% (w/w) โดยทำการหาประสิทธิภาพของการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย โดยใช้สารที่ทำการสังเคราะห์ได้ คือ F-doping ZnO ด้วยปฏิกิริยาโพโตคะตะลิสต์ ซึ่งงานวิจัยให้ผลสรุปได้ว่า F-doping สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ 99.99% ในขณะที่ F-doping สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้ 99.87% เมื่อถูกฉายด้วยแสงวิสิเบิล ซึ่งผลผลิตจาก Reactive Oxygen Species คือหนึ่งในปัจจัยหลักๆในการส่งผลกระทบต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียทั้งแกรมลบ และแกรมบวก และนอกจากนั้นอาจจะมีเหตุผลอื่นๆอีก เช่น ขนาดของอนุภาคซิงค์ออกไซด์ เป็นต้น

Maryam Shafagh และคณะ (2015, 2558) ได้ทำการศึกษาวิจัยในหัวข้อเรื่อง “CuO nanoparticles induce cytotoxicity and apoptosis in human K562 cancer cell line via mitochondrial pathway, through reactive oxygen species and P53 [34]” ในงานวิจัยของ Maryam Shafagh และคณะของพวกเขา ได้ศึกษาการกำจัดและคุณสมบัติเฉพาะของมะเร็งเม็ดเลือดขาว K562 ที่เพาะเลี้ยง โดยใช้อุณหภูมิของ CuO ซึ่งจะสร้าง reactive oxygen species

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ROS) ขึ้นมาในระบบ ซึ่งส่งผลกระทบต่อไมโทคอนเดรีย ทำให้เซลล์ไม่สามารถรับพลังงานจากภายนอกได้ และตายในที่สุด นอกจากนี้มันยังส่งผลกระทบต่อ สายโครงสร้างของ DNA ในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวอีกด้วย ซึ่งพวกเขายังได้ข้อสรุปว่ากลไกนี้สร้างความเป็นพิษเฉพาะกับเซลล์ของมะเร็งเท่านั้น โดยไม่ส่งผลกระทบต่อเซลล์ปกติแม้แต่น้อย ซึ่งในการทดลองของพวกเขาได้เลือกใช้ CuO ที่ความเข้มข้น 2–25  $\mu\text{g/ml}$

จากการได้ศึกษาและทบทวนงานวิจัยเกี่ยวกับอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ พบความพิเศษและน่าสนใจในคุณสมบัติของสารทางด้าน การเร่งปฏิกิริยาทางแสง โดยพบว่าอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ ไททาเนียมไดออกไซด์ และคอปเปอร์ออกไซด์ เป็นสารที่มีราคาไม่สูงมากพบเจอได้ง่ายในธรรมชาติ อีกทั้งยังเป็นที่ยอมรับในการประยุกต์ใช้งาน และส่งผลที่ดีต่อกระบวนการทางโฟโตคะตะลิสต์

แต่จากการศึกษาส่วนใหญ่พบงานวิจัยที่นิยมนำอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ ไททาเนียมไดออกไซด์ และคอปเปอร์ออกไซด์ไปใช้เป็นสารยับยั้งหรือทำลายเชื้อแบคทีเรีย แต่งานวิจัยฉบับนี้เป็น การประยุกต์ใช้งานของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ ไททาเนียมไดออกไซด์ และคอปเปอร์ออกไซด์ เพื่อใช้ในการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมเพาะเลี้ยง เพราะเล็งเห็นถึงปัญหาของโรคมะเร็งที่ส่งผลร้ายต่อคุณภาพชีวิตมนุษย์มาอย่างยาวนาน โดยงานวิจัยฉบับนี้คาดหวังเป็นอย่างยิ่งว่าจะจะเป็นประโยชน์ต่อวงการวิทยาศาสตร์ และวงการแพทย์ เนื่องจากผลวิจัยที่ได้จะเป็นแนวทางเลือกใหม่ให้แพทย์เพื่อใช้ในการรักษาโรคมะเร็งเต้านมต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 3

### วิธีการดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 อุปกรณ์เครื่องมือและสารเคมี

##### 3.1.1 เครื่องมือ

- เครื่อง UV-Vis Spectrophotometer
- เครื่อง UV-chamber (MODEL CX-21)
- คอมพิวเตอร์ (ประมวลผล)
- ตู้ดูดไอสารเคมี (Fume Hood)
- เครื่องชั่งสาร
- กล้องจุลทรรศน์
- Hemacytometer
- Micropipette ขนาด 10 – 100  $\mu\text{L}$  และ ขนาด 100 – 1000  $\mu\text{L}$

##### 3.1.2 เครื่องแก้ว

- บีกเกอร์ ขนาด 25 mL จำนวน 12 อัน
- บีกเกอร์ ขนาด 50 mL จำนวน 1 อัน
- ขวดชมพู ขนาด 50 mL จำนวน 2 อัน
- ปิเปต ขนาด 10 mL
- แท่งแก้วคนสาร

##### 3.1.3 วัสดุ

- ถูมือ
- หน้ากากปิดจมูก
- คิวเวท (Cuvette)
- แท่นวางคิวเวท (Cuvette Rack)
- จุกดูดสารเคมี
- ซ้อนตักสาร
- กระบอกล้างน้ำ
- กระบอกล้าง Ethanol 75%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- แผ่นพาราฟินด์
- กระจกซังสาร
- กระจกทึบ

### 3.1.4 สารเคมี

- Zinc oxide nanoparticles ( $\phi = 90 \pm 10$  nm)
- Titaniumdi oxide nanoparticles ( $\phi = 90 \pm 10$  nm)
- Copper oxide nanoparticles ( $\phi = 50 \pm 5$  nm)
- Ferrozine
- $\text{FeCl}_2$
- น้ำ DI
- Ethanal 75%
- Trypen Blue
- Trypsin
- PBS
- อาหารเลี้ยงเซลล์
- Cell Line: MCF-7

## 3.2 ขั้นตอนการเตรียมสารละลายอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์

เตรียมสารละลายอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ทั้ง 3 ชนิดประกอบไปด้วย ซิงค์ออกไซด์ ไททาเนียมไดออกไซด์ และคอปเปอร์ออกไซด์ ที่ความเข้มข้นเท่ากัน คือ 2.56, 1.28, 0.64, 0.32, 0.16, 0.08, 0.04, 0.02, 0.01, 0.005, 0.0025 และ 0 mg/mL ทั้งหมด 12 ความเข้มข้น [28]

### 3.2.1 ขั้นตอนการเตรียมสารละลายนาโนซิงค์ออกไซด์

อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ที่ใช้ในงานวิจัยฉบับนี้อยู่ในรูปของสารละลาย จึงจำเป็นต้องคำนวณค่าความหนาแน่นของสารละลายจากสมการคำนวณความหนาแน่นของสาร ในสมการที่ 3.1 เพื่อนำไปหาการเจือจางของสารละลายต่อไป

$$V = \frac{m}{\rho} \quad (3.1)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อ  $V$  คือ ปริมาตรความเข้มข้นของสารละลาย

$\rho$  คือ ความหนาแน่นของสารละลาย (Density) = 1.73 g/ml

$m$  คือ น้ำหนักของสารละลายที่ต้องการ (Mass) = 100 g

จะได้

ปริมาตรความเข้มข้นของสารละลายตั้งต้น = 57.8035 mL ซึ่งนำไปสู่การคำนวณหาความเข้มข้นเริ่มต้นได้ จากสมการที่ 3.2

$$\text{ความเข้มข้นเริ่มต้นของตัวถูกละลาย} = \text{โมลของตัวถูกละลาย/ปริมาตรของสารละลาย} \quad (3.2)$$

จะได้

$$\text{ความเข้มข้นเริ่มต้นของอนุภาคซิงค์ออกไซด์} = \frac{52.2g}{57.8035mL} = 0.9030 \text{ g/mL}$$

เมื่อได้ความเข้มข้นเริ่มต้นของอนุภาคซิงค์ออกไซด์ จากสมการที่ 3.2 แล้วจึงสามารถคำนวณหาการเจือจางของสารละลายได้ จากสมการที่ 3.3

$$C_1V_1 = C_2V_2 \quad (3.3)$$

เมื่อ  $C_1$  คือ ความเข้มข้นเริ่มต้น

$V_1$  คือ ปริมาตรเริ่มต้น

$C_2$  คือ ความเข้มข้นสุดท้าย

$V_2$  คือ ปริมาตรสุดท้าย

จากการคำนวณในสมการที่ 3.3 เราต้องการได้ปริมาตรสุดท้ายที่ 10 mL จึงได้ปริมาตรเริ่มต้นที่ต้องการ คือ 0.1107 mL

เนื่องจากความเข้มข้นสูงสุดที่เราต้องการในการทำการทดลองคือ 2.56 mg/mL จึงทำการตวงน้ำ DI ที่ปริมาตร 9.889 mL แล้วผสมกับสารละลายนาโนซิงค์ออกไซด์ที่คำนวณได้คือ 0.111 mL จะได้ความเข้มข้นของสารละลายนาโนซิงค์ออกไซด์ที่ 2.56 mg/mL ในปริมาตร 10 mL กำหนดความเข้มข้น 2.56 mg/mL ในบีกเกอร์ใบที่ 1 แล้วทำการ Dilute สารละลายนาโนซิงค์ออกไซด์จากบีกเกอร์ใบที่ 1,2,3,...,12 จนถึงความเข้มข้นสุดท้าย คือ 0 mg/mL ตามลำดับ แล้วจะได้สารละลาย

นาโนซิงค์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 2.56, 1.28, 0.64, 0.32, 0.16, 0.08, 0.04, 0.02, 0.01, 0.005, 0.0025 และ 0 mg/mL ทั้งหมด 12 ความเข้มข้น ดังแสดงให้เห็นในรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 แสดงความเข้มข้นของสารละลายนาโนซิงค์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 2.56, 1.28, 0.64, 0.32, 0.16, 0.08, 0.04, 0.02, 0.01, 0.005, 0.0025 และ 0 mg/mL ตามลำดับ

### 3.2 ขั้นตอนการเตรียมสารละลายนาโนไททาเนียมไดออกไซด์

อนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ที่ใช้ในงานวิจัยฉบับนี้อยู่ในลักษณะผง จึงทำการซังสารและผสมกับน้ำ DI ได้โดยตรง ดังขั้นตอนต่อไปนี้

1. ซังอนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ในปริมาณ 0.0256 g
2. นำอนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ในปริมาณ 0.256 g ผสมกับน้ำ DI ที่ปริมาณ 10 mL กำหนดให้เป็นบีกเกอร์ใบที่ 1
3. เติมน้ำ DI ปริมาณ 5 mL ลงในบีกเกอร์ใบที่ 2-12 จนครบ
4. ทำการ Dilute สารโดยใช้ไมโครปิเปตติงสารละลายจากบีกเกอร์ใบที่ 1 ในปริมาณ 5 mL ลงในบีกเกอร์ใบที่ 2 ที่มีน้ำ DI อยู่ปริมาณ 5 mL แล้วทำการคนสารละลายให้เข้ากัน ในบีกเกอร์ใบที่ 2 จะได้สารละลายไททาเนียมไดออกไซด์เท่า 1.28 mg/mL
5. ทำการ Dilute สารจากบีกเกอร์ใบที่ 2,3,4,...,12 ต่อไปเรื่อยๆจนครบ 12 ใบ จะได้ 12 ความเข้มข้น ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. เมื่อ Dilute สารจนครบทั้ง 12 ใบ จะได้ความเข้มข้นทั้ง 12 ความเข้มข้น คือ 2.56, 1.28, 0.64, 0.32, 0.16, 0.08, 0.04, 0.02, 0.01, 0.005, 0.0025 และ 0 mg/mL ตามลำดับ แสดงให้เห็นในรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 แสดงความเข้มข้นของสารละลายนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ที่ความเข้มข้น 2.56, 1.28, 0.64, 0.32, 0.16, 0.08, 0.04, 0.02, 0.01, 0.005, 0.0025 และ 0 mg/mL ตามลำดับ

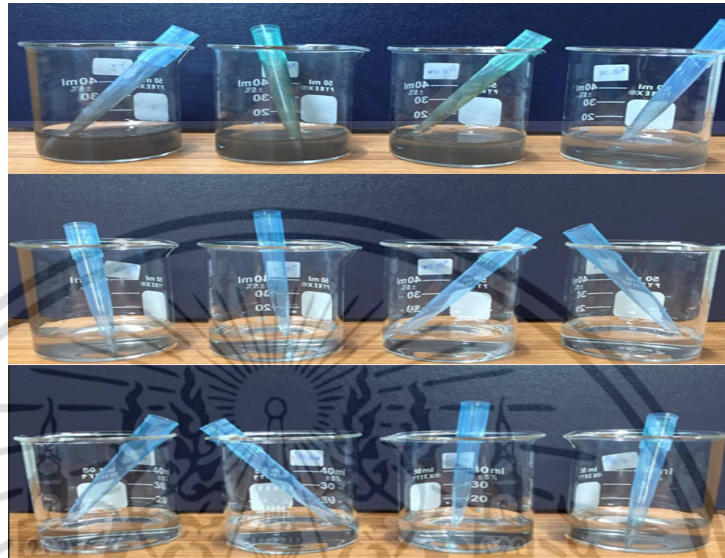
### 3.2.3 ขั้นตอนการเตรียมสารละลายนาโนคอปเปอร์ออกไซด์

อนุภาคนาโนคอปเปอร์ออกไซด์ที่ใช้ในงานวิจัยฉบับนี้อยู่ในลักษณะผง จึงทำการชั่งสารและผสมกับน้ำ DI ได้โดยตรง ดังขั้นตอนต่อไปนี้

1. ชั่งอนุภาคนาโนคอปเปอร์ออกไซด์ในปริมาณ 0.0256 g
2. นำอนุภาคนาโนคอปเปอร์ออกไซด์ในปริมาณ 0.256 g ผสมกับน้ำ DI ที่ปริมาณ 10 mL กำหนดให้เป็นบีกเกอร์ใบที่ 1
3. เติมน้ำ DI ปริมาณ 5 mL ลงในบีกเกอร์ใบที่ 2-12 จนครบ
4. ทำการ Dilute สาร โดยไข่มโครปิเปตติงสารละลายจากบีกเกอร์ใบที่ 1 ในปริมาณ 5 mL ลงในบีกเกอร์ใบที่ 2 ที่มีน้ำ DI อยู่ปริมาณ 5 mL แล้วทำการคนสารละลายให้เข้ากัน ในบีกเกอร์ใบที่ 2 จะได้สารละลายคอปเปอร์ออกไซด์เท่า 1.28 mg/mL
5. ทำการ Dilute สารจากบีกเกอร์ใบที่ 2,3,4,...,12 ต่อไปเรื่อยๆจนครบ 12 ใบ จะได้ 12 ความเข้มข้น ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

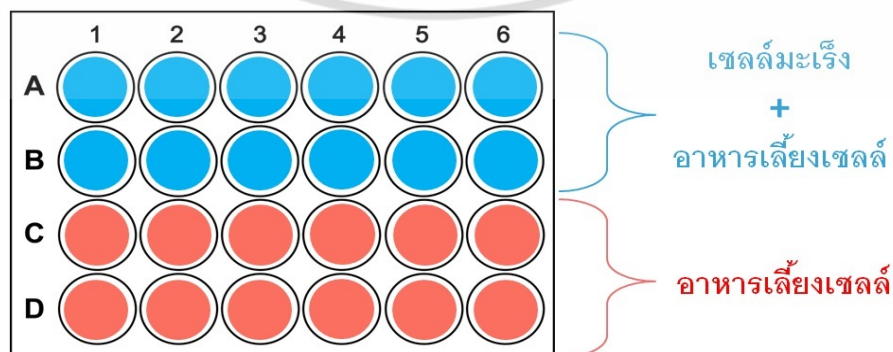
6. เมื่อ Dilute สารจนครบทั้ง 12 ใบ จะได้ความเข้มข้นทั้ง 12 ความเข้มข้น คือ 2.56, 1.28, 0.64, 0.32, 0.16, 0.08, 0.04, 0.02, 0.01, 0.005, 0.0025 และ 0 mg/mL ตามลำดับ แสดงให้เห็นในรูปที่ 3.3



รูปที่ 3.3 แสดงความเข้มข้นของสารละลายนาโนคอปเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 2.56, 1.28, 0.64, 0.32, 0.16, 0.08, 0.04, 0.02, 0.01, 0.005, 0.0025 และ 0 mg/mL ตามลำดับ

### 3.3 ขั้นตอนการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านม

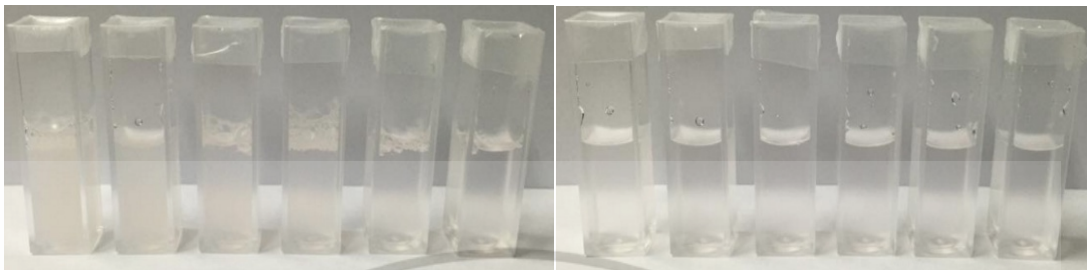
ทำการเตรียมเซลล์มะเร็งเต้านมเพาะเลี้ยงร่วมกับภาคชีววิทยาในเพลทชนิด 24 หลุม ทั้งหมด 3 เพลท สำหรับสารละลายนาโนซิงค์ออกไซด์ ไททานเนียมไดออกไซด์ และคอปเปอร์ออกไซด์ ทั้ง 3 ชนิด โดยแบ่งเป็น 12 หลุมบนใส่เซลล์มะเร็งเต้านมเพาะเลี้ยงกับอาหารเลี้ยงเซลล์ประมาณ และ 12 หลุมล่างใส่อาหารเลี้ยงเซลล์เพื่อเป็นเซลล์ควบคุม ดังแสดงให้เห็นในรูปที่ 3.4



รูปที่ 3.4 เพลทใส่เซลล์มะเร็งเต้านมเพาะเลี้ยงในปริมาตรหลุมละ 1 mL

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- นำสารละลายโลหะออกไซด์ทั้ง 3 ชนิดที่เตรียมไว้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงจากเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ที่ความเข้มข้นทั้ง 12 ความเข้มข้นโดยบรรจุใส่คิวเวทล 2 mL แสดงให้เห็นในรูปที่ 3.5 – 3.7



รูปที่ 3.5 สารละลายนาโนซิงค์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 2.56, 1.28, 0.64, 0.32, 0.16, 0.08, 0.04, 0.02, 0.01, 0.005, 0.0025 และ 0 mg/mL ตามลำดับจากซ้ายไปขวา



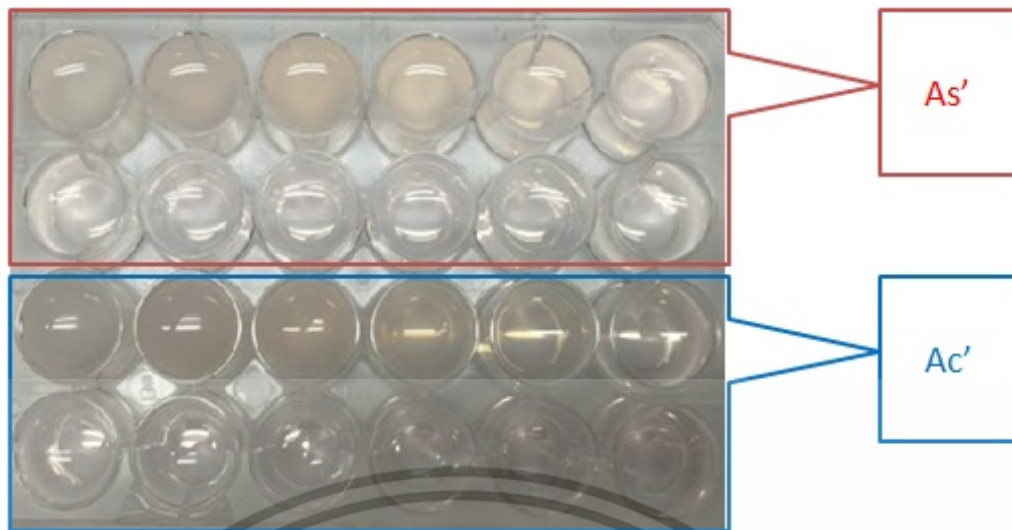
รูปที่ 3.6 สารละลายนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ที่ความเข้มข้น 2.56, 1.28, 0.64, 0.32, 0.16, 0.08, 0.04, 0.02, 0.01, 0.005, 0.0025 และ 0 mg/mL ตามลำดับจากซ้ายไปขวา



รูปที่ 3.7 สารละลายนาโนคอปเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 2.56, 1.28, 0.64, 0.32, 0.16, 0.08, 0.04, 0.02, 0.01, 0.005, 0.0025 และ 0 mg/mL ตามลำดับจากซ้ายไปขวา

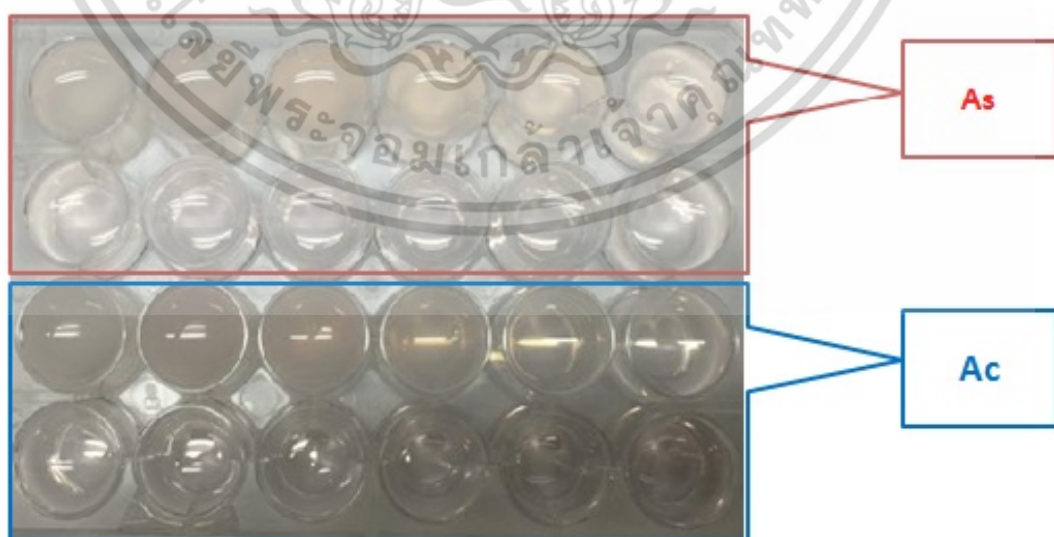
- นำอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ทั้ง 3 ชนิดที่ความเข้มข้นต่างๆ บรรจุใส่เพลทที่มีเซลล์เต้านม กำหนดเป็น (As') และบรรจุใส่เพลทที่มีเซลล์ควบคุม กำหนดเป็น (Ac') ในหลุมละ 1 mL โดยเรียงจากความเข้มข้นสูงไปต่ำ ตามลำดับ แสดงให้เห็นในรูปที่ 3.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.8 เพลทใส่เซลล์มะเร็ง (As') และเซลล์ควบคุม (Ac')

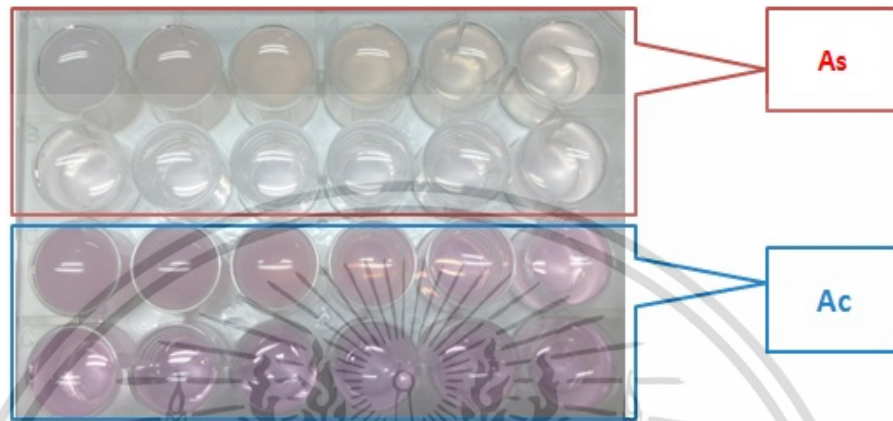
3. เมื่อบรรจุอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ทั้ง 3 ชนิดลงในเพลท แล้วจึงปิดฝาเพลทพร้อมปิดแผ่นพาราฟินให้รอบเพลทกันการระเหย แล้วนำทั้งเพลท 3 เข้าตู้ UV-chamber ตั้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
4. เมื่อครบ 24 ชั่วโมงจะได้เพลทที่มีเซลล์มะเร็งที่มีอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ ซึ่งผ่านการกระตุ้นแสง กำหนดเป็น (As) และจะได้เพลทที่มีเซลล์ควบคุม โดยมีอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ที่ผ่านการกระตุ้นแสง กำหนดเป็น (Ac) ที่ความเข้มข้นต่างๆ แสดงให้เห็นในรูปที่ 3.9



รูปที่ 3.9 เพลทใส่เซลล์มะเร็ง (As) และ เซลล์ควบคุม (Ac)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาตจากเจ้าของลิขสิทธิ์  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. ตรวจสอบความสามารถในการจับกับโลหะ  $Fe^{2+}$  โดยการเติมน้ำ DI ปริมาณ 0.9 mL +  $FeCl_2$  ปริมาณ 0.033 mL + Ferrozine ปริมาณ 0.067 mL ลงใน (As) และ (Ac) ทั้ง 24 หลุม และครบทั้ง 3 เพลท จากนั้นทำการเขย่าสารให้เข้ากันโดยการดูดปล่อยๆ ไมโครปิเปต แล้วทิ้งไว้เป็นเวลา 40 นาที แสดงให้เห็นในรูปที่ 3.10

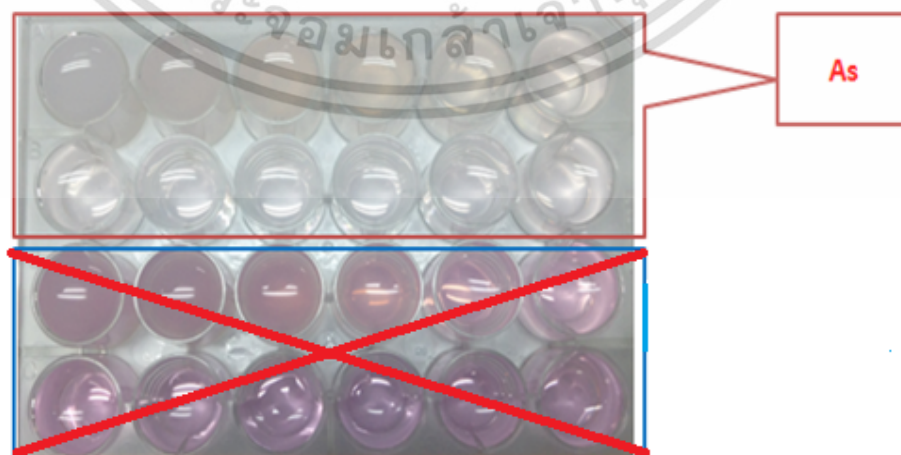


รูปที่ 3.10 (As) และ (Ac) เมื่อเติมน้ำ DI +  $FeCl_2$  + Ferrozine

6. ทำการวัดการดูดกลืนแสง โดยดูดสารละลายจากเพลททั้งหมดมาบรรจุใส่คิวเวทล 2 mL โดยใช้ (Ac) เป็นตัวควบคุม จะได้ค่าการดูดกลืนของ (As) ที่ความเข้มข้นต่างๆจนครบทั้ง 3 เพลท

### 3.4 ขั้นตอนการนับจำนวนเซลล์

1. ทำการนับเซลล์มะเร็งเฉพาะ 12 หลุมบน (As) คือ ส่วนที่มีเซลล์มะเร็ง ดังแสดงให้เห็นในรูปที่ 3.11



รูปที่ 3.11 แสดงรูปเพลทที่มีเซลล์มะเร็ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

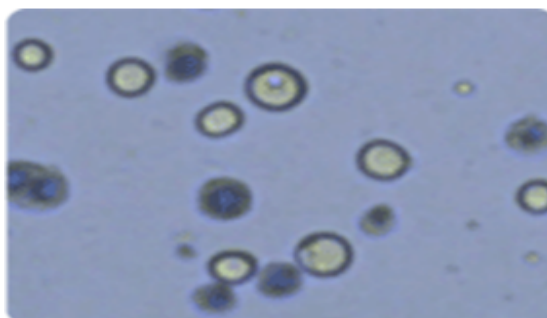
2. ทำการดูดสารละลายที่เหลือในเพลทปริมาตร 1 mL ออกให้หมด เพราะเซลล์มะเร็งจะเกาะแค่ที่บริเวณพื้นผิวของเพลทเท่านั้น
3. ทำการเติมเต็มสาร PBS ปริมาตร 0.5 mL ให้ครบทุกหลุม เพื่อทำการชะล้าง และหยุดการทำงานของสารละลายต่างๆกับเซลล์มะเร็ง โดยทิ้งไว้ประมาณ 1 นาที จากนั้นดูดสาร PBS ออกทั้งหมด
4. ทำการเติมสาร Trypsin ปริมาตร 0.2 mL ให้ครบทุกหลุม เพื่อทำการย่อยเซลล์มะเร็งที่เกาะอยู่ที่พื้นผิวให้หลุดออก แล้วทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที จากนั้นดูดสาร Trypsin ออกทั้งหมด
5. เติมอาหารเซลล์ ปริมาตร 0.4 mL ให้ครบทุกหลุม แล้วใช้ไมโครปิเปตดูดพ่นๆ พร้อมดูดพื้นผิวเพลทให้เซลล์มะเร็งหลุดออกจากเพลท
6. เติมสีย้อม Trypen blue ปริมาตร 0.1 mL ในหลุมทั้งหมดที่ต้องการนับเซลล์ พร้อมกับใช้ไมโครปิเปตดูดพ่นๆ เพื่อผสมสีย้อมให้เข้าสู่เซลล์มะเร็ง
7. นำเซลล์มะเร็งที่ถูกผสมด้วยสีย้อม Trypen blue มาโหลดลงในแผ่นฮีมาไซโตมิเตอร์
8. นำเซลล์มะเร็งที่ผ่านการโหลดใส่แผ่นฮีมาไซโตมิเตอร์ แล้วนำไปส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 40 เท่า แสดงให้เห็นดังรูปที่ 3.12



รูปที่ 3.12 แสดงการนับเซลล์โดยใช้กล้องจุลทรรศน์

9. ทำการนับเฉพาะเซลล์มะเร็งที่ยังมีชีวิต ซึ่งลักษณะของเซลล์มีชีวิตจะกลมและโปร่งแสง เพราะไม่ติดสีย้อมจาก Trypen blue ส่วนเซลล์ตายจะลักษณะทึบแสง แสดงลักษณะเซลล์เป็นและเซลล์ตายในรูปที่ 3.13

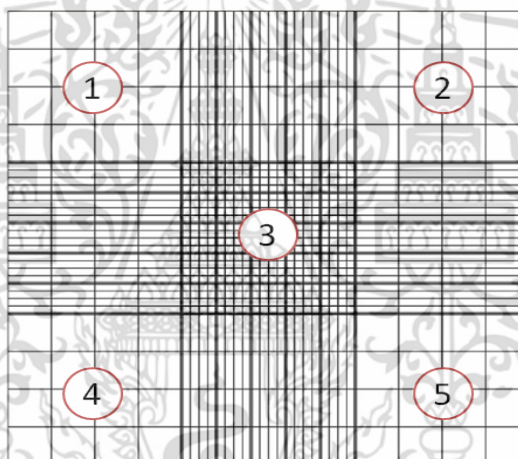
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.13 เซลล์มีชีวิต (มีลักษณะโปร่งแสง)

เซลล์ตาย (มีลักษณะทึบแสงจากสีย้อม Trypan blue) ขนาดเซลล์เฉลี่ย 20 ไมโครเมตร

10. นับเซลล์มะเร็งผ่านตารางกริดในแผ่นฮีมาไซโตมิเตอร์ ซึ่งจะมีตารางแบ่งเป็น 5 ช่องใหญ่ แสดงให้เห็นในรูปที่ 3.14



รูปที่ 3.14 ตารางกริดภายในฮีมาไซโตมิเตอร์ ที่มีช่องใหญ่ทั้ง 5 ช่องใน 1 แคมเบอร์ (Chamber)

11. จากนั้นทำตามลำดับขั้นตอนในข้อที่ 3 - 10 อีกครั้งจนครบทั้ง 3 เพลทของสารละลาย อนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ทั้ง 3 ชนิด และจนครบทั้ง 12 ความเข้มข้น พร้อมจดบันทึกผล และทำการคำนวณจำนวนเซลล์ จากสมการคำนวณจำนวนเซลล์เหลือรอด

### 3.5 สมการคำนวณจำนวนเซลล์เหลือรอด

$$\text{จำนวนเซลล์มีชีวิตต่อ } 1 \text{ mL} = \text{จำนวนเซลล์มีชีวิตเฉลี่ย} \times 10^4 \times \text{ค่าความเจือจาง} \quad (3.4)$$

โดยที่  $10^4$  คือ ปริมาตรใน 1 ช่องของแคมเบอร์ (Chamber) ใน Hemocytometer [22]

โดยหาค่าความเจือจางจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{ซึ่ง ความเจือจาง} = \left( \frac{A+B}{A} \right) \quad (3.5)$$

โดยที่ A คือ ปริมาตรเซลล์แขวนลอยที่ดูดออกมา นับ =  $0.4[mL]$

B คือ ปริมาตรสีย้อม Trypen blue =  $0.1[mL]$

ซึ่งจะได้

$$\begin{aligned} \text{ความเจือจาง} &= \frac{0.4[mL] + 0.1[mL]}{0.4[mL]} \\ &= \frac{0.5[mL]}{0.4[mL]} \\ &= \frac{5}{4} [mL] \end{aligned}$$

โดยนำมาคำนวณจำนวนเซลล์เหลือรอดได้

### 3.5.1 ตัวอย่างการคำนวณจำนวนเซลล์เหลือรอดได้

จากการนับเซลล์มะเร็งบนแชมเบอร์ในฮีมาไซโตมิเตอร์ภายใต้กำลังขยาย 40 เท่าของกล้องจุลทรรศน์ สมมติให้มีจำนวนนับ คือ 2, 5, 10, 15 และ 18 ดังแสดงให้เห็นในรูปที่ 3.15

2	5
	10
15	18

รูปที่ 3.15 แสดงเลขจำนวนนับเซลล์มะเร็ง

นำจำนวนนับที่ได้มาคำนวณจำนวนเซลล์ในสมการต่อไปนี้

$$\text{จะได้} \quad \frac{2+5+10+15+18}{5} \times 10^4 \times \frac{5}{4} = 125000 \quad [\text{เซลล์}] \quad (3.6)$$

นั่นแสดงว่าใน 1 ความเข้มข้นที่ตรวจนับเซลล์มะเร็ง จะมีเซลล์เหลือรอดอยู่ 125,000 เซลล์ นั่นเอง เอกสารนี้เป็นเอกสารทรัพย์สินทางปัญญาของบริษัทฯ นี้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ใดได้เอกสารฉบับนี้ไปใช้โดยไม่ได้รับอนุญาตจากบริษัทฯ หรือผู้เกี่ยวข้องอื่น ๆ ให้ออกเอกสารฉบับนี้ทันที และต้องแจ้งถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 4

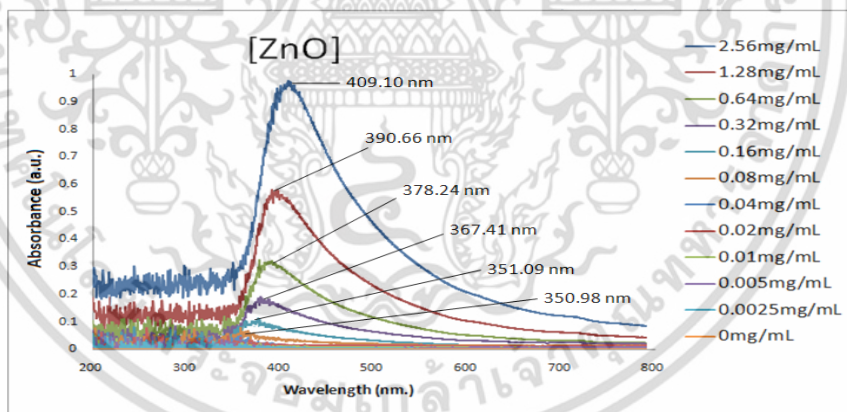
# ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

### 4.1 ศึกษาคุณสมบัติทางแสงของอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์

งานวิจัยฉบับนี้ต้องการใช้คุณสมบัติของสารอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ ภายใต้การเร่งปฏิกิริยาทางแสงเพื่อใช้ในการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านม ซึ่งสารแต่ละชนิดมีค่าการดูดกลืนแสงที่แตกต่างกัน ส่งผลต่อการเลือกใช้ความยาวคลื่นแสงในการกระตุ้นปฏิกิริยาให้ได้ประสิทธิภาพสูงสุดก็แตกต่างกัน ซึ่งจำเป็นต้องการศึกษาว่า สารอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ชนิด ซิงค์ออกไซด์ ไททาเนียมไดออกไซด์ และคอปเปอร์ออกไซด์ มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นเท่าไร เพื่อวิเคราะห์ หรือเลือกใช้แสงให้ตรงตามทฤษฎี และมีประสิทธิภาพสูงสุด

#### 4.1.1 ผลการวิจัยค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์

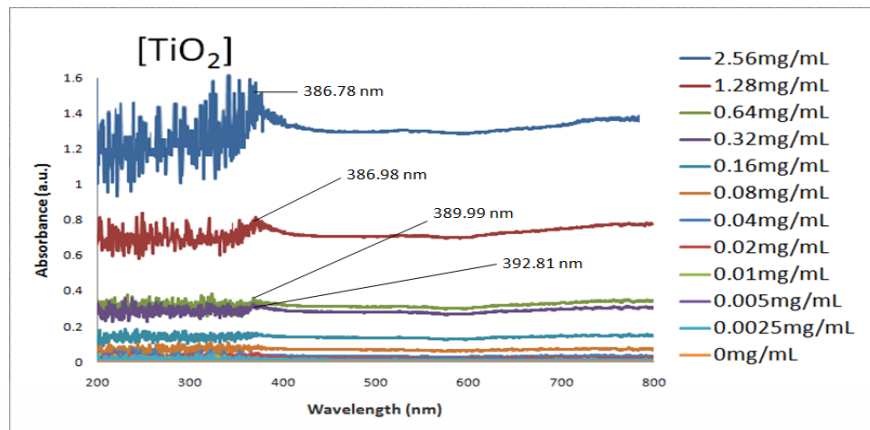
ในส่วนของการทดลอง ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายนาโนซิงค์ออกไซด์ ไททาเนียมไดออกไซด์ และคอปเปอร์ออกไซด์ โดยใช้ค่าความเข้มข้นของสารละลายเท่ากันที่ 2.56, 1.28, 0.64, 0.32, 0.16, 0.08, 0.04, 0.02, 0.01, 0.005, 0.0025 และ 0 mg/mL แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงและค่าความยาวคลื่นของสารละลายนาโนโลหะออกไซด์ทั้ง 3 ชนิด ดังรูปที่ 4.1 – 4.3



รูปที่ 4.1 สเปกตรัมของสารละลายนาโนซิงค์ออกไซด์ตามลำดับค่าของความเข้มข้น (run#1)

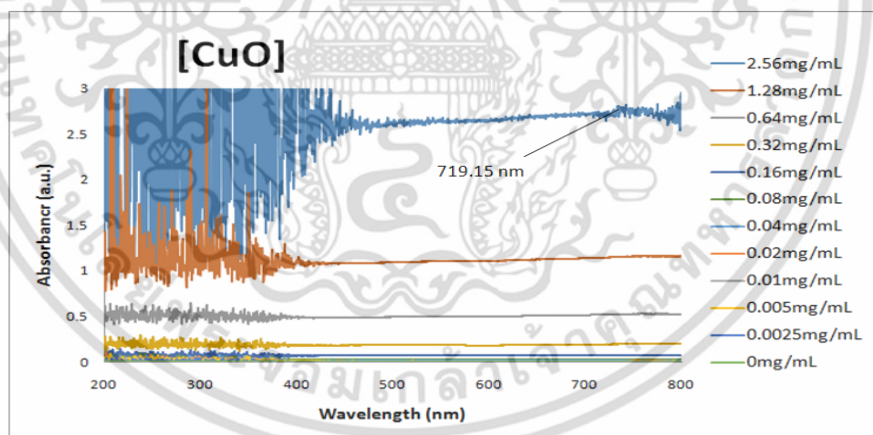
จากรูปที่ 4.1 แสดงผลให้เห็นว่าค่าของการดูดกลืนแสงของสารละลายนาโนซิงค์ออกไซด์จะลดลงตามลำดับค่าของความเข้มข้นสารละลายที่ลดลง ตรงตามกฎของเบียร์และแลมเบิร์ตได้กล่าวไว้ ( $A = \epsilon cl$ ) จากรูปแสดง ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารละลายนาโนซิงค์ออกไซด์ ซึ่งอ่านค่าการดูดกลืนสูงสุดที่ 350.98 - 409.10 nm จากค่าความเข้มข้น 0.08 - 2.56 mg/mL ซึ่งได้ค่าความกว้างของแถบพลังงานใกล้เคียงกับ 3.37 eV ตามเอกสารอ้างอิง [6] จากรูปจะเห็นว่าที่ความเข้มข้นที่ต่ำกว่า 0.08 mg/mL ไม่สามารถอ่านค่าการดูดกลืนสูงสุดของสารละลายนาโนซิงค์ออกไซด์ได้ เนื่องจากความเข้มข้นของสารที่น้อยเกินไปทำให้เกิดสัญญาณรบกวนในระบบการตรวจวัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 สเปกตรัมของสารละลายนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ตามลำดับค่าของความเข้มข้น (run#1)

จากรูปที่ 4.2 แสดงผลให้เห็นว่าค่าของการดูดกลืนแสงของสารละลายนาโนไททาเนียมไดออกไซด์จะลดลงตามลำดับค่าของความเข้มข้นสารละลายที่ลดลง เป็นไปตามกฎของเบียร์และแลมเบิร์ตได้กล่าวไว้ จากรูปแสดง ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารละลายนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ ซึ่งอ่านค่าการดูดกลืนสูงสุดที่ 387.78 - 390.86 nm จากความเข้มข้น 0.32 - 2.56 mg/mL ซึ่งได้ค่าความกว้างของแถบพลังงานใกล้เคียงกับ 3.12 eV ตามเอกสารอ้างอิง [9] จากรูปจะเห็นว่าที่ความเข้มข้นที่ต่ำกว่า 0.32 mg/mL ไม่สามารถอ่านค่าการดูดกลืนสูงสุดของสารละลายนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ได้ เนื่องจากความเข้มข้นของสารที่น้อยเกินไปทำให้เกิดสัญญาณรบกวนในระบบการตรวจวัด



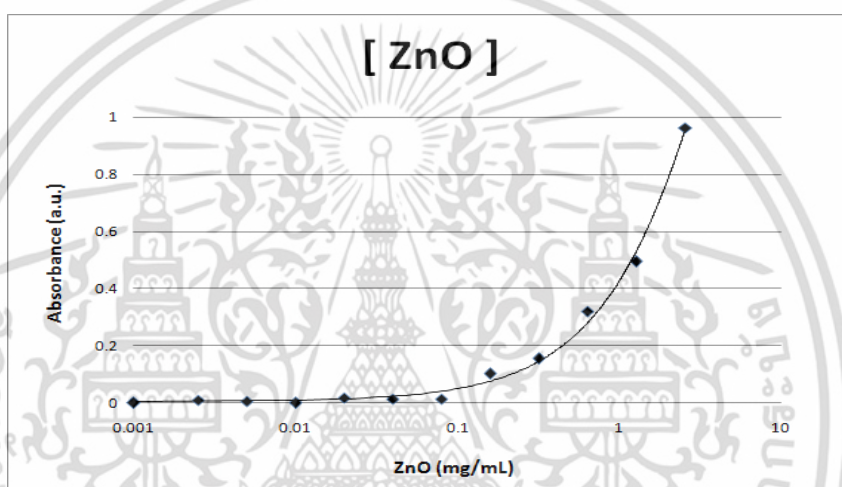
รูปที่ 4.3 สเปกตรัมของสารละลายนาโนคอปเปอร์ออกไซด์ตามลำดับค่าของความเข้มข้น (run#1)

จากรูปที่ 4.3 แสดงผลให้เห็นว่าค่าของการดูดกลืนแสงของสารละลายนาโนคอปเปอร์ออกไซด์จะลดลงตามลำดับค่าของความเข้มข้นสารละลายที่ลดลง เป็นไปตามกฎของเบียร์และแลมเบิร์ตได้กล่าวไว้ ซึ่งในการทดลองตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายนาโนคอปเปอร์ออกไซด์ ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดยังไม่ปรากฏอย่างชัดเจน จึงนำไปสู่การค้นคว้างานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคนาโนคอปเปอร์ออกไซด์ พบการรายงานว่ นาโนคอปเปอร์ออกไซด์มีช่องว่างแถบพลังงานอยู่ที่ 1.5 - 1.85 eV [12,34,35] จึงลองคำนวณหาความยาวคลื่นแสงจากสมการที่ 2.1 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

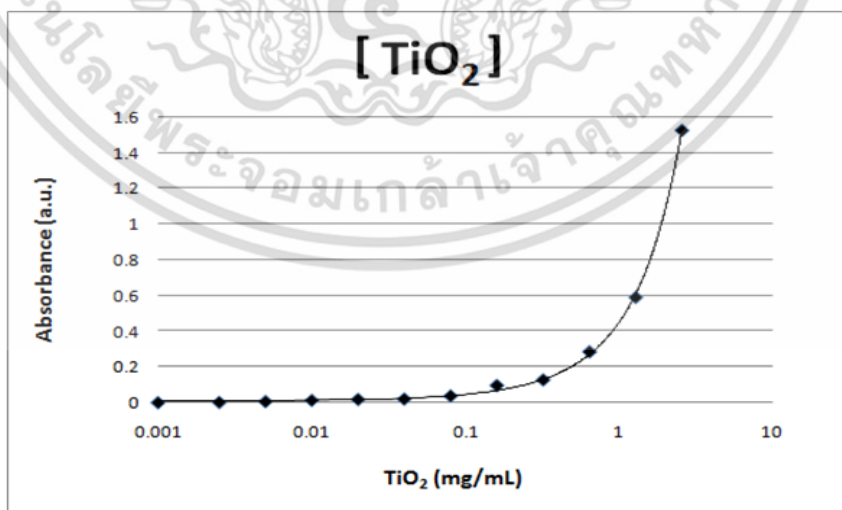
ทำให้ทราบค่าการดูดกลืนแสงอยู่ที่ประมาณ 670 - 798 nm จึงนำมาเปรียบเทียบกับผลการทดลองในรูปที่ 4.3 พบว่าความยาวคลื่นที่ประมาณ 700 nm มีแนวโน้มของกราฟสูงขึ้น จึงเลือกข้อมูลจากจุดสูงสุดของการดูดกลืนอยู่ที่ 719.15 nm เพื่อความสอดคล้องและเป็นไปในทำนองเดียวกันกับตามเอกสารอ้างอิง จึงนำไปสู่การวิเคราะห์และเปรียบเทียบผลในหัวข้อถัดไป

#### 4.1.2 อภิปรายผลการดูดกลืนแสงของอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์

จากผลของการดูดกลืนแสงในหัวข้อที่ 4.1.1 สามารถนำมาสู่ความสัมพันธ์แบบเอ็กโพเนนเชียล เมื่อพล็อตกราฟระหว่างค่าการดูดแสงสูงสุดกับค่าความเข้มข้นของสารละลายโลหะออกไซด์ ดังแสดงให้เห็นในรูปที่ 4.5 - 4.7

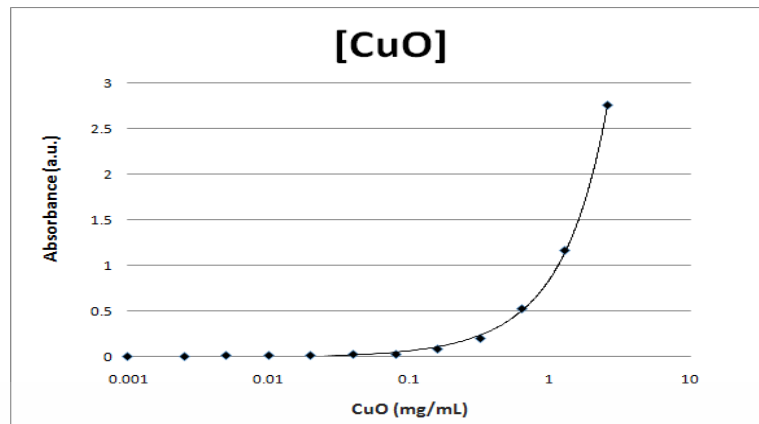


รูปที่ 4.4 ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดกับค่าความเข้มข้นของสารละลายนาโนซิงค์ออกไซด์ (run#1)



รูปที่ 4.5 ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดกับค่าความเข้มข้นของสารละลายนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ (run#1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดกับค่าความเข้มข้นของสารละลายนาโนคอปเปอร์ออกไซด์ (run#1)

จากรูปที่ 4.4 - 4.6 แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่า ค่าของการดูดกลืนแสงจะค่อยๆ สูงขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายนาโนโลหะออกไซด์ ซึ่งในหัวข้อที่ 4.1.1 - 4.1.2 ทำให้ทราบว่าค่าการดูดกลืนแสงจะแปรผันตรงตามความเข้มข้นของสารละลาย ซึ่งสอดคล้องและเป็นไปตามกฎของเบียร์และแลมเบิร์ตได้กล่าวไว้ว่า ( $A = \epsilon cl$ )

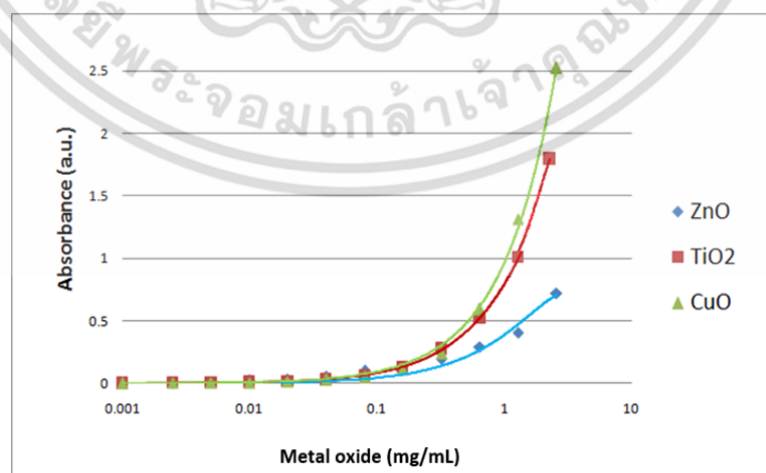
เมื่อ  $A$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสาร (Absorbance)

$\epsilon$  คือ คุณสมบัติเฉพาะตัวของสารดูดกลืน เรียกว่า Molar Absorptivity

$l$  คือ ระยะทางที่แสงผ่านสารตัวอย่าง (cm)

$c$  คือ ความเข้มข้น หน่วยเป็น โมล/ลิตร หรือโมลาร์ (M)

การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนสูงสุด (เฉลี่ย) ของสารละลายนาโนโลหะออกไซด์ทั้ง 3 ชนิดที่แตกต่างกันดังแสดงให้เห็นในรูปที่ 4.7 น่าจะเกิดเนื่องจากเหตุผลสองประการ คือ ประการแรก คือ คุณสมบัติเฉพาะตัวของสารดูดกลืน  $\epsilon$  ที่เป็นตัวกำหนดคุณสมบัติของสารแต่ละชนิด



รูปที่ 4.7 การเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (เฉลี่ย) ของสารละลาย

นาโนซิงค์ออกไซด์ ไททาเนียมไดออกไซด์ และคอปเปอร์ออกไซด์ (run#1-6)

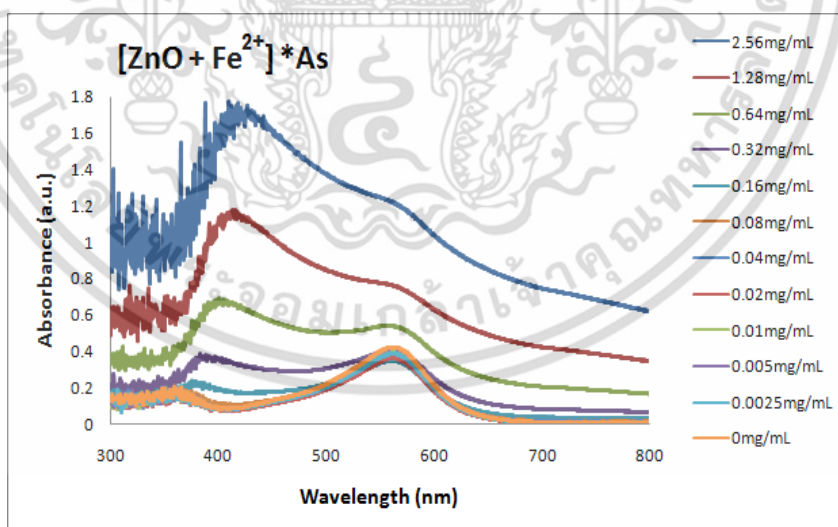
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประการต่อมาคือผลที่ขึ้นเกิดจากโครงสร้างสารที่แตกต่างกันของโลหะออกไซด์ ซึ่งอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์มีโครงสร้างแบบเวิร์ทไซต์ (Wurtzite) อนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์มีโครงสร้างแบบบรูคไคท์ (Brookite) และอนุภาคนาโนคอปเปอร์ออกไซด์มีโครงสร้างแบบมอนอคลินิก (Monoclinic)

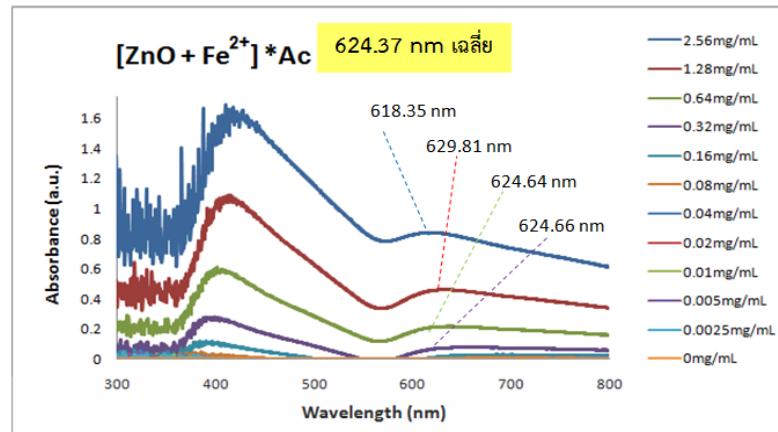
## 4.2 ศึกษาผลการทำลายเซลล์มะเร็งจากโลหะเหล็กและอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์

สารละลายนาโนโลหะออกไซด์ทั้ง 3 ชนิด เมื่อให้แสง Ultraviolet และ Visible light ในการกระตุ้นปฏิกิริยาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อทำลายเซลล์มะเร็งเต้านม และถูกเติมด้วยสารละลายโลหะ  $Fe^{2+}$  และ Ferrozine ที่ความเข้มข้น 33 และ 67  $\mu\text{L}$  ตามลำดับ ลงในหลุมที่มีเซลล์มะเร็ง กำหนดค่าการดูดกลืนของสารละลายตัวอย่าง คือ (As) และเติมลงในหลุมที่เป็นเซลล์ควบคุม กำหนดค่าการดูดกลืนของสารละลายควบคุม คือ (Ac) แล้วใช้แสง Ultraviolet และ Visible light ในการกระตุ้น เพื่อวิเคราะห์ผลการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านม

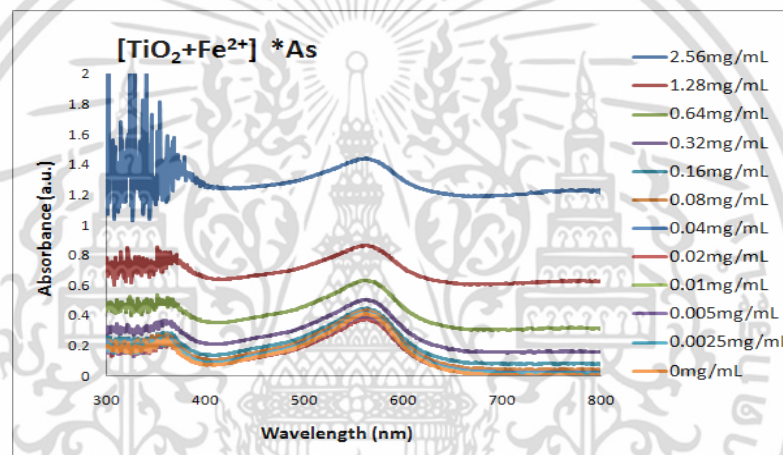
4.2.1 ผลการดูดกลืนของสารละลายนาโนโลหะออกไซด์หลังการกระตุ้นแสง กำหนดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายนาโนโลหะออกไซด์ที่เติมโลหะเหล็กในเซลล์มะเร็งหลังการกระตุ้นที่ คือ (As) และค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายนาโนโลหะออกไซด์ที่เติมโลหะเหล็กหลังการกระตุ้นในเซลล์ควบคุม คือ (Ac) แสดงผลการดูดกลืนแสงของ As และ Ac ให้เห็นในรูปที่ 4.8 – 4.13



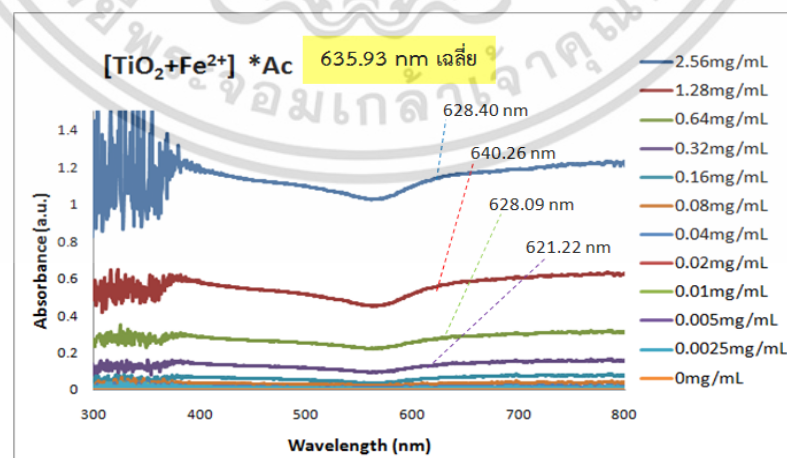
รูปที่ 4.8 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายนาโนซิงค์ออกไซด์ที่เติมโลหะเหล็กหลังการกระตุ้นด้วยแสง Ultraviolet ในเซลล์เซลล์มะเร็ง (As)



รูปที่ 4.9 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายนาโนซิงค์ออกไซด์ที่เติมโลหะเหล็กหลังการกระตุ้นด้วยแสง Ultraviolet ในเซลล์ควมคุม (Ac)

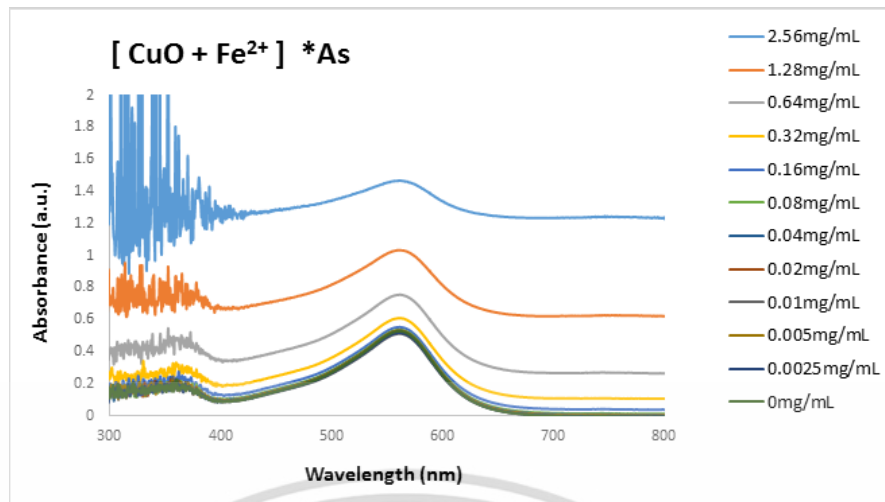


รูปที่ 4.10 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายนาโนไททาเนียมออกไซด์ที่เติมโลหะเหล็กหลังการกระตุ้นด้วยแสง Ultraviolet ในเซลล์เซลล์มะเร็ง (As)

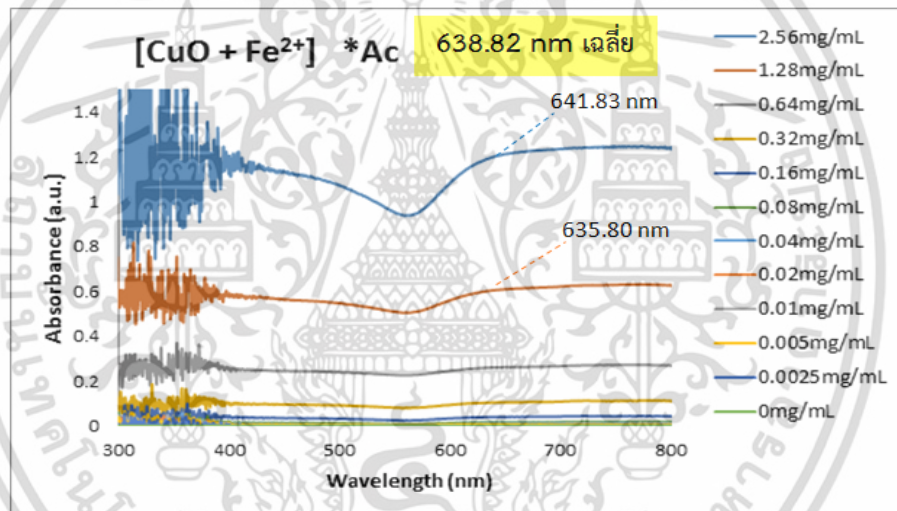


รูปที่ 4.11 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายนาโนไททาเนียมออกไซด์ที่เติมโลหะเหล็กหลังการกระตุ้นด้วยแสง Ultraviolet ในเซลล์ควมคุม (Ac)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.12 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายนาโนคอปเปอร์ออกไซด์ที่เติมโลหะเหล็กหลังการกระตุ้นด้วยแสง Visible light ในเซลล์เซลล์มะเร็ง (As)

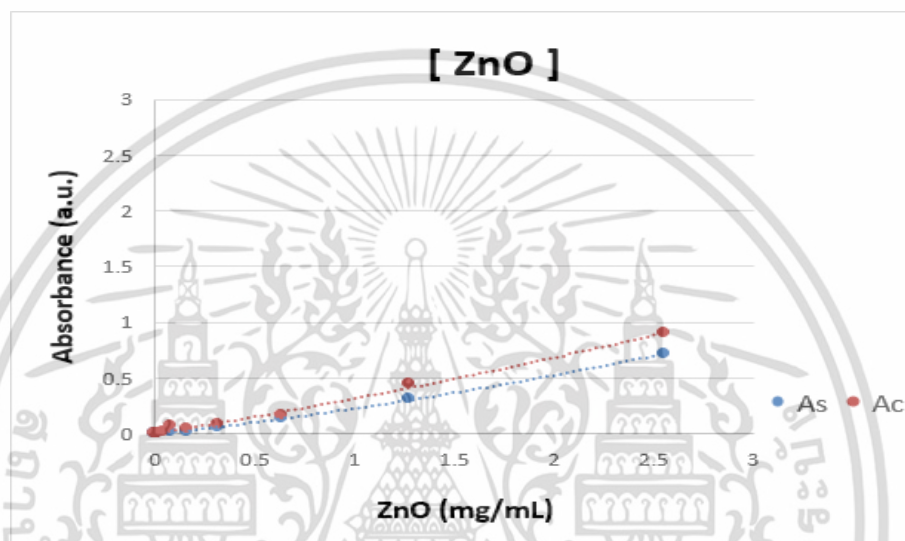


รูปที่ 4.13 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายนาโนคอปเปอร์ออกไซด์ที่เติมโลหะเหล็กหลังการกระตุ้นด้วยแสง Visible light ในเซลล์ควบคุม (Ac)

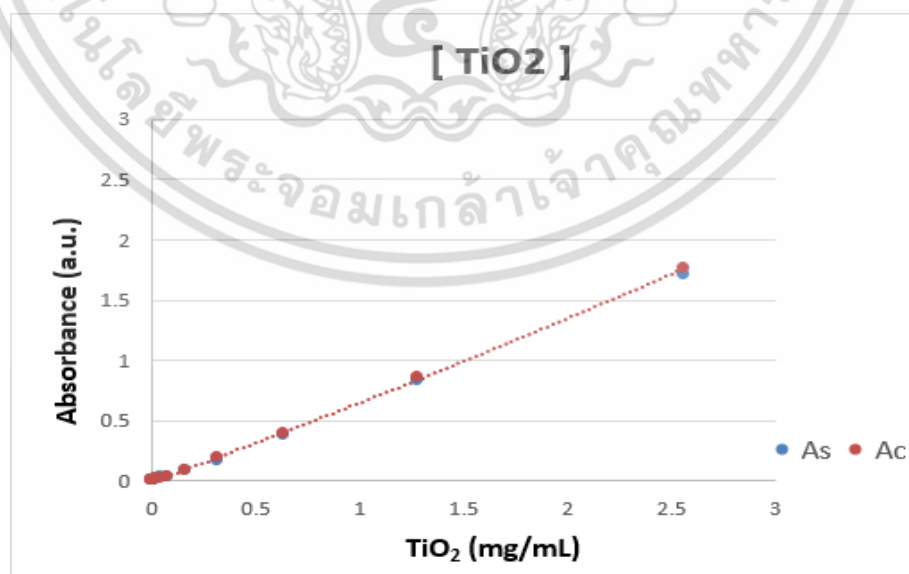
จากรูปที่ 4.8 – 4.13 จะเห็นว่าสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ทั้ง 3 ชนิดที่เติมโลหะเหล็ก มีพีคการดูดกลืนหลังการกระตุ้นแสง (As) และ (Ac) ที่แตกต่างกัน โดยค่าการดูดกลืนของโลหะออกไซด์ที่เติมโลหะเหล็กในเซลล์ควบคุม (Ac) จะแสดงพีคการดูดกลืนที่ชัดเจนและโดดเด่นกว่าพีคการดูดกลืนของโลหะออกไซด์ที่เติมโลหะเหล็กในเซลล์มะเร็ง (As) ด้วยความสามารถในการจับกับโลหะเหล็กของอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ที่แตกต่างกัน จึงนำมาสู่การเปรียบเทียบเพื่อตรวจหาเปอร์เซ็นต์การเหลือของสารนาโนโลหะออกไซด์หลังการทำลายเซลล์มะเร็ง โดยการหาค่าการดูดกลืนของโลหะเหล็ก และเปรียบเทียบที่ค่าความยาวคลื่นที่เท่ากันของ (As) และ (Ac) โดยจะใช้ค่าการดูดกลืนของ (Ac) เป็นตัวควบคุม ซึ่งจากการค้นคว้าพบว่ามีรายงานค่าการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดูดกลืนของโลหะเหล็ก  $Fe^{2+}$  ที่ความยาวคลื่น 560-580 nm [36] แต่จากการทดลองพบว่า สารละลายนาโนซิงค์ออกไซด์ที่เติมโลหะเหล็ก มีค่าการดูดกลืนของโลหะเหล็กที่ความยาวคลื่น 624.37 nm เฉลี่ย สารละลายนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ที่เติมโลหะเหล็ก มีค่าการดูดกลืนของโลหะเหล็กที่ความยาวคลื่น 635.93 nm เฉลี่ย และสารละลายนาโนคอปเปอร์ออกไซด์ที่เติมโลหะเหล็ก มีค่าการดูดกลืนของโลหะเหล็กที่ความยาวคลื่น 638.82 nm เฉลี่ย จึงนำมาสู่การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การจับกับโลหะเหล็กของสารละลายนาโนโลหะออกไซด์ทั้ง 3 ชนิด ดังแสดงให้เห็นในรูปที่ 4.14 – 4.16



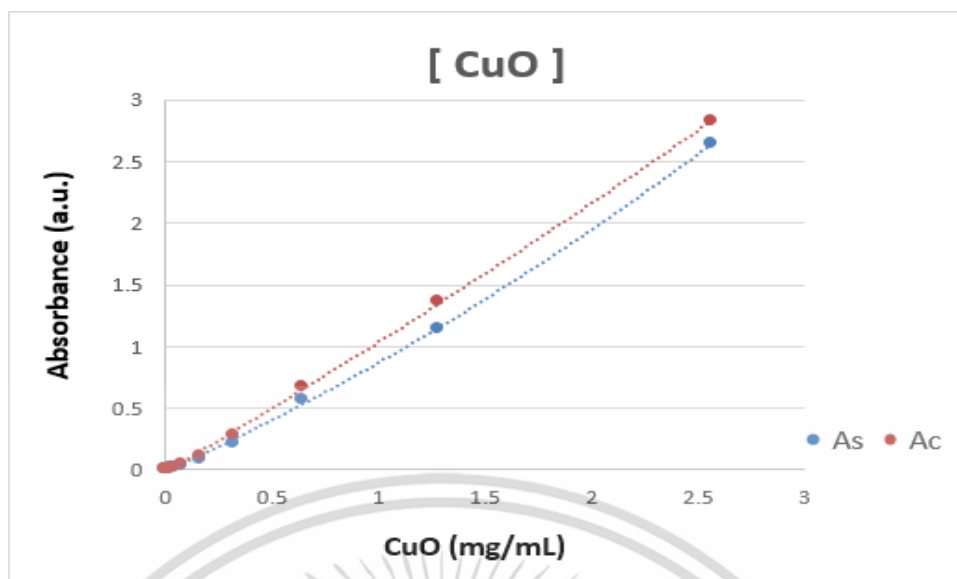
รูปที่ 4.14 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายนาโนซิงค์ออกไซด์ หลังการกระตุ้นด้วยแสง Ultraviolet ทั้ง (As) และ (Ac)



รูปที่ 4.15 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายนาโนไททาเนียมไดออกไซด์

หลังการกระตุ้นด้วยแสง Ultraviolet ทั้ง (As) และ (Ac)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.16 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายนาโนคอปเปอร์ออกไซด์ หลังการกระตุ้นด้วยแสง Visible light ทั้ง (As) และ (Ac)

จากรูปที่ 4.14 – 4.16 แสดงให้เห็นว่าหลังจากการกระตุ้นด้วยแสงจากเครื่อง UV-chamber สารละลายไททาเนียมไดออกไซด์มีความสามารถในการจับกับโลหะหนักได้ดีที่สุด นั้นส่งผลถึงความสามารถในการทำลายเซลล์มะเร็งได้น้อยที่สุดเมื่อเทียบกับระหว่างสารทั้ง 3 ชนิด เนื่องจากค่าการดูดกลืนแสงหลังการถูกกระตุ้น คือค่าการบอกรวมของสารละลายนาโนโลหะออกไซด์ที่เหลือจากการทำลายเซลล์มะเร็ง หรือในอีกแง่หนึ่งคือ เซลล์ไม่ยินยอมให้สารละลายนาโนโลหะออกไซด์เข้าไปทำลายเซลล์ได้ทั้งหมด 100% เซลล์จึงมีกลไกการขับสารแปลกปลอมออกจากเซลล์ ซึ่งสามารถตรวจวัดเป็นเปอร์เซ็นต์ออกมาได้ แสดงให้เห็นในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงเปอร์เซ็นต์การเข้าสู่เซลล์ของสารละลายนาโนโลหะออกไซด์จับกับโลหะหนัก

ความเข้มข้น (mg/mL)	เข้าสู่เซลล์ (%)			เซลล์บีมออก (%)		
	ZnO	TiO <sub>2</sub>	CuO	ZnO	TiO <sub>2</sub>	CuO
2.56	20.52573	7.03207	10.08381	79.47427	92.96793	89.91619
1.28	31.02796	8.38270	15.84485	68.97204	91.61730	84.15515
0.64	39.87951	8.16893	19.37350	60.12049	91.83107	80.62650
0.32	48.60128	21.22720	33.42605	51.39877	78.77280	66.57395
0.16	49.54750	14.07603	24.68513	50.45250	85.92397	75.31487

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 4.1 สามารถเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเข้าทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมได้ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า สารละลายนาโนซิงค์ออกไซด์สามารถเข้าทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมได้มากที่สุด ตามด้วยคอปเปอร์ออกไซด์ และไททาเนียมไดออกไซด์เข้าทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมได้น้อยที่สุด ตามลำดับ

ส่วนข้อมูลที่ตรวจวัด สามารถตรวจวัดได้ในความเข้มข้นค่อนข้างสูง เพราะค่าความเข้มข้นที่ต่ำกว่า 0.16 mg/mL ไม่สามารถอ่านค่าข้อมูลดิบได้ เนื่องจากปริมาณความเข้มข้นของสารละลายโลหะออกไซด์ที่น้อยๆ ไม่ส่งผลต่อกลไกการจับสารออกของเซลล์

#### 4.2.2 อภิปรายผลการดูดกลืนของนาโนโลหะออกไซด์ที่จับกับโลหะเหล็ก

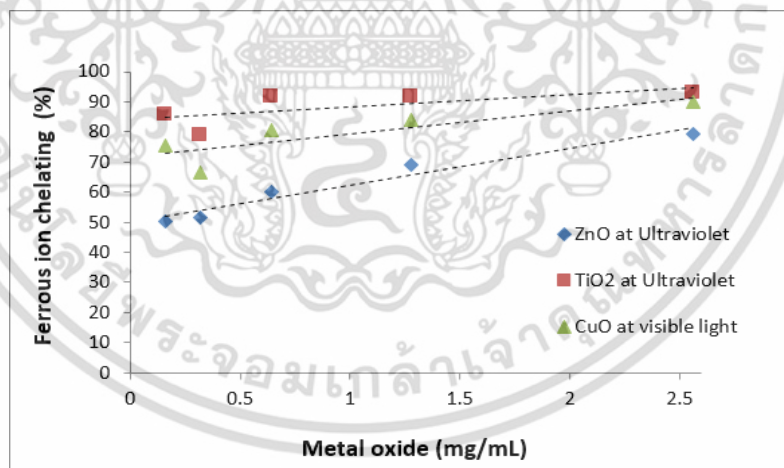
จากการสรุปผลในหัวข้อที่ 4.2.1 และตารางที่ 4.1 สามารถนำมาสู่การสรุปเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การจับกับโลหะเหล็กของสารละลายนาโนโลหะออกไซด์ทั้ง 3 ชนิดได้ จากสมการที่ 4.1

$$\% \text{ Ferrous ion chelating} = \frac{As}{Ac} \times 100 \quad (4.1)$$

เมื่อ As คือ ค่าการดูดกลืนแสงหลังการกระตุ้นในเซลล์มะเร็ง

Ac คือ ค่าการดูดกลืนแสงหลังการกระตุ้นในเซลล์ควบคุม

จากสมการที่ 4.1 นำมาสู่การเปรียบเทียบผลการทำลายเซลล์มะเร็งของสารละลายนาโนโลหะออกไซด์ทั้ง 3 ชนิด แสดงในรูปที่ 4.12



รูปที่ 4.17 แสดงเปอร์เซ็นต์การจับกับโลหะเหล็กของอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ทั้ง 3 ชนิด

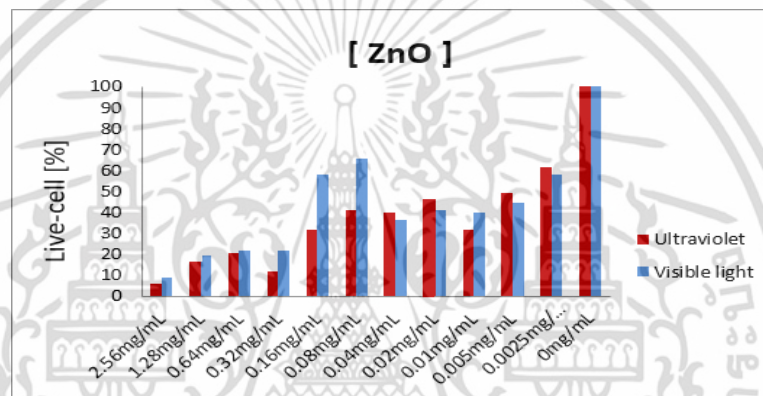
จากรูปที่ 4.17 แสดงให้เห็นได้ว่า เปอร์เซ็นต์การจับกับโลหะเหล็กของสารละลายไททาเนียมไดออกไซด์ เหลือมากที่สุด ตามด้วยคอปเปอร์ออกไซด์ และซิงค์ออกไซด์ ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าผลการทำลายเซลล์มะเร็ง หรือปริมาณสารที่เข้าสู่เซลล์ของไททาเนียมไดออกไซด์มีประสิทธิภาพน้อยที่สุด โดยในส่วนของสารละลายนาโนซิงค์ออกไซด์ จากรูปที่ 4.17 มีเปอร์เซ็นต์การจับกับโลหะ

เหล็กเหลือน้อยที่สุด นั้นแสดงผลให้เห็นว่าประสิทธิภาพของการทำลายเซลล์มะเร็งของซิงค์ออกไซด์ดีที่สุดนั่นเอง

### 4.3 ศึกษาผลการทำลายเซลล์มะเร็งจากการนับจำนวนเซลล์

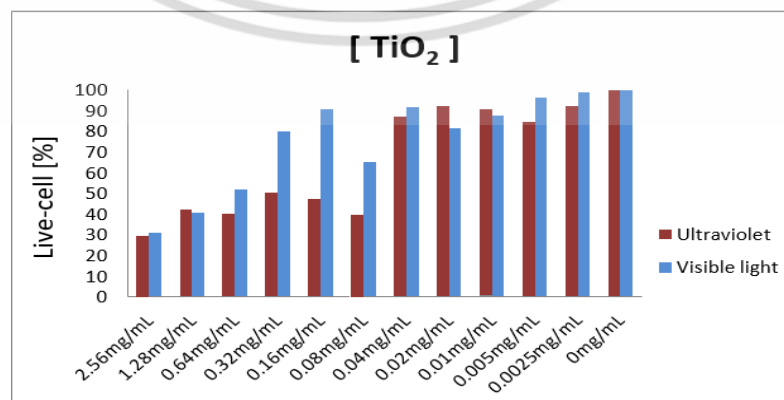
#### 4.3.1 ผลการนับจำนวนเซลล์มะเร็งเหลือรอดของสารละลายโลหะออกไซด์

ผลการนับจำนวนเซลล์มะเร็งเหลือรอดของสารละลายโลหะออกไซด์ทั้ง 3 ชนิด ภายใต้การกระตุ้นด้วยแสง Ultraviolet และ Visible Light ของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ ไททาเนียมไดออกไซด์ และ คอปเปอร์ออกไซด์ แสดงให้เห็นรูปที่ 4.18 - 4.20 ตามลำดับ



รูปที่ 4.18 จำนวนเซลล์เหลือรอดในสารละลายนาโนซิงค์ออกไซด์ภายใต้การกระตุ้นด้วยแสง

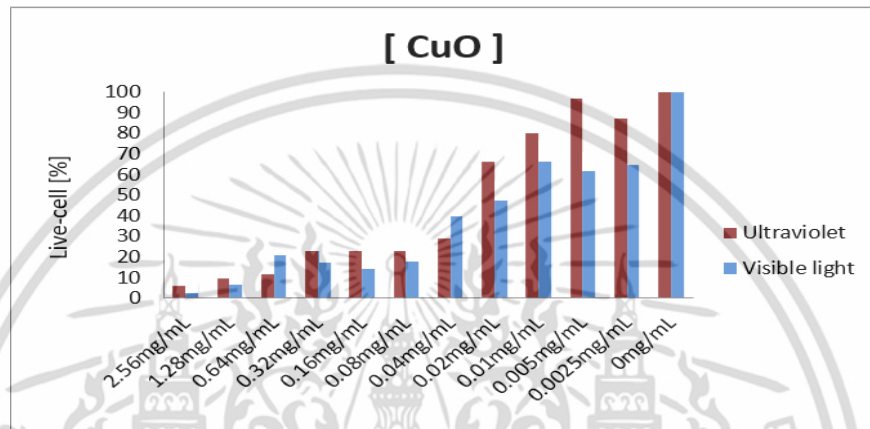
จากรูปที่ 4.18 เซลล์เหลือรอดของมะเร็งเต้านมกับความเข้มข้นของสารละลายนาโนซิงค์ออกไซด์ภายใต้การกระตุ้นด้วยแสง Ultraviolet และ Visible Light แสดงให้เห็นได้ว่าเซลล์เหลือรอดจะมีจำนวนน้อยที่การกระตุ้นด้วยแสง Ultraviolet และลดจำนวนลงตามความเข้มข้นที่สูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องต่อค่าการดูดกลืนแสงในย่านแสง Ultraviolet ของสารละลายนาโนซิงค์ออกไซด์



รูปที่ 4.19 จำนวนเซลล์เหลือรอดในสารละลายไททาเนียมไดออกไซด์ภายใต้การกระตุ้นด้วยแสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ใดเห็นประโยชน์ในการนำ  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.19 เซลล์เชื้อโรคของมะเร็งเต้านมกับความเข้มข้นของสารละลายนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ภายใต้การกระตุ้นด้วยแสง Ultraviolet และ Visible Light แสดงให้เห็นได้ว่าเซลล์เชื้อโรคจะมีจำนวนน้อยที่การกระตุ้นด้วยแสง Ultraviolet และลดจำนวนลงตามความเข้มข้นที่สูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องต่อค่าการดูดกลืนแสงในย่านแสง Ultraviolet ของสารละลายนาโนไททาเนียมไดออกไซด์



รูปที่ 4.20 จำนวนเซลล์เชื้อโรคในสารละลายนาโนคอปเปอร์ออกไซด์ภายใต้การกระตุ้นด้วยแสง

จากรูปที่ 4.20 เซลล์เชื้อโรคของมะเร็งเต้านมกับความเข้มข้นของสารละลายนาโนคอปเปอร์ออกไซด์ ภายใต้การกระตุ้นด้วยแสง Ultraviolet และ Visible Light เห็นได้ว่าเซลล์เชื้อโรคจะมีจำนวนน้อยที่การกระตุ้นด้วยแสง Visible Light และลดจำนวนลงตามความเข้มข้นที่สูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องต่อค่าการดูดกลืนแสงในย่านแสง Visible Light ของสารละลายนาโนคอปเปอร์ออกไซด์

#### 4.3.2 อภิปรายผลการนับจำนวนเซลล์ของสารละลายโลหะออกไซด์

จากผลการนับจำนวนเซลล์ที่ได้ในหัวข้อที่ 4.3.1 สามารถนำมาสู่การวิเคราะห์เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์เซลล์เชื้อโรคจากผลการทำลายของสารละลายนาโนโลหะออกไซด์ทั้ง 3 ชนิดได้ จากสมการที่ 4.2

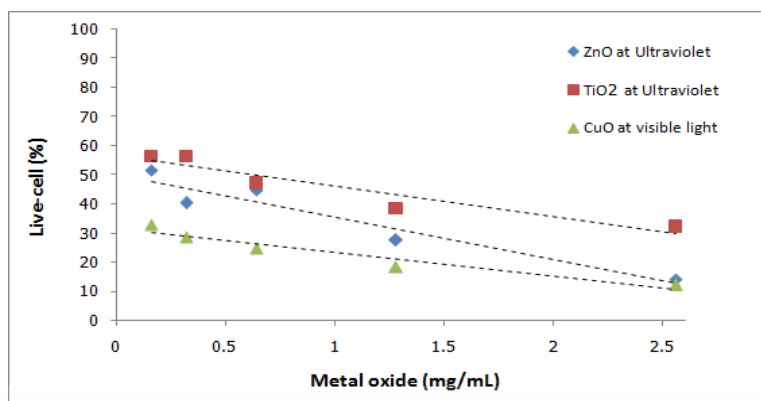
$$\% \text{ Live cell} = \frac{N_s}{N_c} \times 100 \quad (4.2)$$

เมื่อ  $N_s$  คือ จำนวนเซลล์มะเร็งที่เชื้อโรค

$N_c$  คือ จำนวนเซลล์ควบคุมที่ความเข้มข้น 0 mg/mL

จากสมการที่ 4.2 นำมาสู่การเปรียบเทียบผลการนับจำนวนเซลล์มะเร็งเชื้อโรคจากการทำลายของสารละลายนาโนโลหะออกไซด์ทั้ง 3 ชนิด แสดงในรูปที่ 4.22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.21 แสดงเปอร์เซ็นต์จำนวนเซลล์มะเร็งเหลือรอดของสารละลายนาโนโลหะออกไซด์ทั้ง 3 ชนิด

จากรูปที่ 4.21 แสดงผลการนับจำนวนเซลล์มะเร็งเหลือรอดของสารละลายนาโนโลหะออกไซด์ทั้ง 3 ชนิด พบว่าสารละลายนาโนไททาเนียมไดออกไซด์มีเซลล์มะเร็งเหลือรอดมากที่สุดเมื่อเทียบกับสารละลายนาโนโลหะออกไซด์ทั้ง 3 ชนิด แล้วตามด้วย ซิงค์ออกไซด์ และคอปเปอร์ออกไซด์ ตามลำดับ ซึ่งผลการนับจำนวนเซลล์พบว่า สารละลายนาโนคอปเปอร์ออกไซด์ มีจำนวนเซลล์มะเร็งเหลือรอดน้อยกว่าสารละลายนาโนซิงค์ออกไซด์

แต่ผลจากการตรวจวัดเปอร์เซ็นต์การจับสารโลหะ  $Fe^{2+}$  แสดงให้เห็นว่าไททาเนียมไดออกไซด์มีความสามารถในการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมได้น้อยที่สุดเมื่อเทียบกับ คอปเปอร์ออกไซด์ และซิงค์ออกไซด์ ตามลำดับ ดังนั้นผลการทดลองในงานวิจัยฉบับนี้สามารถสรุปได้ว่าอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ และคอปเปอร์ออกไซด์ มีความสามารถในการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมชนิด MCF-7 ได้ภายใต้การถูกกระตุ้นด้วยแสงที่เหมาะสมได้ดีกว่าไททาเนียมไดออกไซด์

ซึ่งกลไกการทำลายเซลล์มะเร็ง เกิดขึ้นเมื่ออนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ถูกกระตุ้นด้วยแสงในย่านความถี่ที่เหมาะสม ทำให้ไอเล็กตรอน (Electron) ที่แถบเวเลนซ์ถูกกระตุ้นขึ้นไปยังแถบความนำไฟฟ้า ซึ่งทำให้เกิดคู่อิเล็กตรอน ( $e^-$ ) และโฮล ( $h^+$ ) โดยคู่อิเล็กตรอนโฮลจะทำปฏิกิริยากับออกซิเจน ( $O_2$ ) และน้ำ ( $H_2O$ ) ในระบบ ทำให้เกิดซูเปอร์ออกไซด์เรดิคัลแอนไอออน (Superoxide,  $O_2^-$ ) และไฮดรอกซิลเรดิคัล (Hydroxyl radical,  $OH\cdot$ ) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นอนุมูลอิสระ (Free Radical) เรียกกลไกที่เกิดขึ้นว่า “กระบวนการโฟโตคะตะลิสต์”

ซึ่งอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ที่ใช้ในการทดลองทั้ง 3 ชนิด มีขนาดอนุภาคเล็กกว่า 100 nm จึงสามารถเข้าสู่เซลล์ได้โดยตรง ด้วยกระบวนการแพร่ (Diffusion) เนื่องจากรูรับสารของเยื่อหุ้มเซลล์มีขนาด  $\phi = 220 \pm 40$  nm [31] และรูรับสารของนิเคลียสภายในเซลล์มีขนาด  $\phi = 100 \pm 20$  nm [32] ทำให้อนุภาคนาโนโลหะออกไซด์เข้าทำลายเซลล์ได้ถึงภายใน ซึ่งกระบวนการทำลายเซลล์มะเร็ง สามารถอธิบายการทำลายเซลล์ด้วย 2 กระบวนการหลัก คือ การทำลายเซลล์ภายในเยื่อหุ้มเซลล์ และ การทำลายเซลล์ภายในนิวเคลียส

### 1. การทำลายเซลล์ภายในเยื่อหุ้มเซลล์

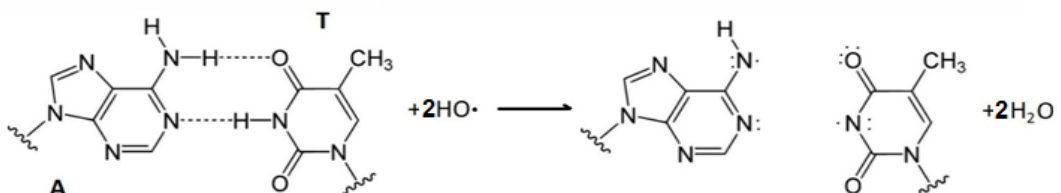
เมื่ออนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ที่ถูกกระตุ้นด้วยแสงในย่านความถี่ที่เหมาะสม ทำให้อิเล็กตรอนที่สถานะพื้นหรือที่แถบเวเลนซ์ ถูกกระตุ้นไปยังแถบความนำไฟฟ้า ทำให้อนุภาคนาโนโลหะออกไซด์มีอิเล็กตรอนอิสระ หรือสูญเสียอิเล็กตรอนที่แถบเวเลนซ์ไป จึงเหลือความเป็นโฮลอยู่จำนวนมาก ทำให้อนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ มีคุณสมบัติดึงดูดอิเล็กตรอนเพื่อรักษาความเสถียรของตัวเอง จากนั้นเมื่ออนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ผ่านเข้าสู่เยื่อหุ้มเซลล์ จึงดึงอิเล็กตรอนภายในเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์สูญเสียอิเล็กตรอนให้กับโลหะออกไซด์ ส่งผลให้เยื่อหุ้มเซลล์มีสภาพทางไฟฟ้าด้วยประจุสุทธิไม่เท่ากับ 0 ส่งผลให้มีอันตรกิริยากับคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า หรือแสงที่ส่งเข้าไป ทำให้เซลล์ถูกดึงขึ้นลงตามสนามไฟฟ้าของแสง เยื่อหุ้มเซลล์จึงแตกส่งผลให้เซลล์ตายในที่สุด

### 2. การทำลายเซลล์ภายในนิวเคลียส และ DNA

จากกระบวนการโฟโตคะตะลิสต์ทำให้มีอนุมูลอิสระ ( $\text{OH}\cdot$ ) ซึ่งมีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยว (Unpaired Electron) โดยมีความสามารถดึงเอาอะตอมของโมเลกุลอื่นๆมาเติมให้ตัวเองเสถียร เมื่อ ( $\text{OH}\cdot$ ) เข้าสู่ภายในนิวเคลียส ซึ่งมี DNA (Deoxyribonucleic Acid) อยู่ภายในประกอบด้วยโพลีนิวคลีโอไทด์ (Polynucleotide) 2 สายพันกันเป็นเกลียวคู่ (Double Helix) ทั้ง 2 สายจะยึดจับกันระหว่างคู่ของเบสแต่ละสายด้วยพันธะไฮโดรเจน ซึ่ง A (Adenine) จะจับกับคู่กับ T (Thymine) และ G (Guanine) จะจับคู่กับ C (Cytosine) เรียกว่าเบสคู่สม ดังนั้นอนุมูลอิสระ ( $\text{OH}\cdot$ ) มีความสามารถดึงไฮโดรเจน (H) ของเบส T-A และ C-G ที่จับกันด้วยพันธะไฮโดรเจนออก เพื่อมาจับกับตัวเองด้วยพันธะโควาเลนต์ ซึ่งมีพลังงานพันธะที่สูงกว่าพันธะไฮโดรเจน ทำให้กลายเป็นโมเลกุลน้ำ ดังสมการที่ 4.3

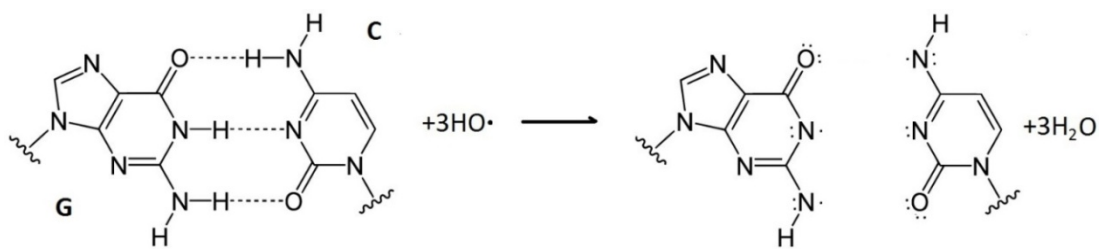


เมื่อสายเกลียวคู่ของ DNA ถูกดึงไฮโดรเจนออกแล้ว ไนโตรเจน (N) และออกซิเจน (O) ที่เหลือ จะหันอิเล็กตรอนอิสระเข้าหากัน ทำให้เบส T-A และ C-G ที่เคยจับกันด้วยพันธะไฮโดรเจน ผลักกันด้วยแรงไฟฟ้าจากภายในด้วยอิเล็กตรอนอิสระของไนโตรเจน และอิเล็กตรอนอิสระของออกซิเจน ทำให้สายเกลียวคู่ของ DNA แยกออกจากกันด้วยแรงผลักทางไฟฟ้า นำไปสู่การตายของเซลล์นั่นเอง แสดงให้เห็นในรูปที่ 4.23 และ 4.24



รูปที่ 4.22 แสดงการทำลายพันธะระหว่าง A (Adenine) กับ T (Thymine) ใน DNA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.23 แสดงการทำลายพันธะระหว่างG (Guanine) กับ C (Cytosine) ใน DNA



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 5

# สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

### 5.1 สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยฉบับนี้ทำการศึกษาผลการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านม ภายใต้กระบวนการทางโฟโตคะตะลิสต์ของอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ ประกอบไปด้วยอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ ไททาเนียมไดออกไซด์ และคอปเปอร์ออกไซด์ โดยการนำผลจากการศึกษามาเปรียบเทียบกับประสิทธิภาพที่ดีที่สุดสำหรับการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านม ซึ่งนำมาสู่ผลสรุปได้ว่า อนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ มีค่าการดูดกลืนแสงลดลง เมื่อทำการลดค่าความเข้มข้นของอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ ซึ่งเป็นไปตามกฎของเบียร์และแลมเบิร์ตกล่าวไว้ นอกจากนี้เทคนิคการวัดค่าการดูดกลืนแสงทำให้ทราบค่าการดูดกลืนของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ ไททาเนียมไดออกไซด์ และคอปเปอร์ออกไซด์ ที่ความยาวคลื่น 350.98 - 409.10 nm, 387.78 - 390.86 nm และ 719.15 nm ตามลำดับ

จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ พร้อมกับการนับจำนวนเซลล์มะเร็งเต้านมที่เหลือรอด พบว่าอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ และไททาเนียมไดออกไซด์ สามารถทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมได้ดีที่สุดภายใต้การกระตุ้นด้วยแสง Ultraviolet ส่วนอนุภาคนาโนคอปเปอร์ออกไซด์ สามารถทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมได้ดีที่สุดภายใต้การกระตุ้นด้วยแสง Visible Light ซึ่งสอดคล้องกับค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ทั้ง 3 ชนิด

ส่วนของการทดลองยังพบอีกว่าเซลล์มะเร็งเต้านมจะมีจำนวนเซลล์เหลือน้อยลง เมื่อทำการเพิ่มค่าความเข้มข้นของอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ ซึ่งในงานวิจัยฉบับนี้ใช้ความเข้มข้นสูงสุดที่ 2.56 mg/mL เนื่องจากเป็นค่าความเข้มข้นสูงสุดที่จะไม่ทำลายเซลล์เม็ดเลือดแดง ซึ่งเปรียบเสมือนกับเซลล์ปกติในร่างกายมนุษย์

กระบวนการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านม เริ่มจากอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์เข้าสู่เซลล์มะเร็งด้วยกระบวนการแพร่ (Diffusion) เหตุจากขนาดของอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ที่ใช้ในงานวิจัยฉบับนี้ มีขนาดน้อยกว่า 100 nm จึงทำให้อนุภาคนาโนโลหะออกไซด์เข้าสู่เซลล์มะเร็งได้โดยตรง เนื่องจากรูรับสารของเยื่อหุ้มเซลล์มีขนาด  $\phi = 220 \pm 40$  nm และรูรับสารของนิวเคลียสภายในเซลล์มีขนาด  $\phi = 100 \pm 20$  nm ทำให้อนุภาคนาโนโลหะออกไซด์เข้าทำลายเซลล์ได้ถึงภายใน โดยอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์จะทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมได้ประสิทธิภาพดีที่สุด ก็ต่อเมื่อทำการฉายแสง หรือให้พลังงานในย่านความถี่ที่เหมาะสม โดยสอดคล้องต่อการดูดกลืนของอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ เมื่อให้พลังงานการกระตุ้นจะทำให้เกิดปฏิกิริยาโฟโตคะตะลิสต์ โดยผลจากปฏิกิริยาจะทำให้เกิดออกซิเจน-ไดออกไซด์ ( $O_2^-$ ) และเกิดไฮดรอกซิลเรดิคัล ( $OH\cdot$ ) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นอนุมูลอิสระ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Free Radical) สามารถทำลายพันธะหรือโครงสร้าง DNA ของเซลล์มะเร็งให้แยกออกจากกัน ส่งผลให้เซลล์มะเร็งตายในที่สุด

ซึ่งผลการวิเคราะห์เพื่อหาประสิทธิภาพของอนุภาคนาโนโลหะออกไซด์ทั้ง 3 ชนิดให้ผลสรุปว่า ไททาเนียมไดออกไซด์มีความสามารถในการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมได้น้อยที่สุดเมื่อเทียบกับคอปเปอร์ออกไซด์และซิงค์ออกไซด์ โดยการตรวจวัดจากค่าเปอร์เซ็นต์การจับสารโลหะ  $Fe^{2+}$  และจากการนับจำนวนเซลล์มะเร็งเต้านมรอดพบว่า อนุภาคนาโนคอปเปอร์ออกไซด์และซิงค์ออกไซด์ ยังมีจำนวนเซลล์เหลือรอดน้อยกว่าอนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ ดังนั้นงานวิจัยฉบับนี้สามารถสรุปได้ว่าอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์และคอปเปอร์ออกไซด์ มีความสามารถในการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมชนิด MCF-7 ได้ภายใต้การถูกกระตุ้นด้วยแสงที่เหมาะสมได้ดีกว่าไททาเนียมไดออกไซด์

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

- การนับจำนวนเซลล์มะเร็งด้วยสายตาของมนุษย์โดยตรง อาจเกิดความคลาดเคลื่อนเนื่องจากมนุษย์ ยังมีขีดจำกัดในการทำงานซ้ำๆ ได้ไม่ได้นัก ส่งผลให้กระบวนการนับจำนวนเซลล์มะเร็งอาจก่อให้เกิดความผิดพลาดได้
- การใช้สารที่อยู่ในลักษณะผง (Powder) เมื่อทำการละลายน้ำอาจตกตะกอนที่ก้นภาชนะ ส่งผลให้ความเข้มข้นคลาดเคลื่อน และเป็นผลให้ประสิทธิภาพของการใช้สารลดลง
- การเตรียมสารละลายที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นส่วนที่สำคัญ ผู้ทำการทดลองควรมีสมาธิและตวงปริมาณสารให้มีความแม่นยำที่สุด
- การทำการทดลองโดยใช้สารเคมีต่างๆ แม้จะเป็นสารที่ปลอดภัย ก็ควรมีความระมัดระวังต่อการใช้สารเคมี และหลีกเลี่ยงการสัมผัสกับสารเคมีโดยตรง
- ทุกครั้งที่ทำการทดลองควรสวมถุงมือ และหน้ากากอนามัยเสมอ เพื่อความปลอดภัยของผู้ทดลอง

## เอกสารอ้างอิง

- [1] ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, “นาโนเทคโนโลยีงานวิจัยนาโนเทคโนโลยีของประเทศไทย”, (2551).
- [2] ชลดา อีรการณวงศ์, “ไททาเนียมไดออกไซด์: วัสดุฆ่าเชื้อแบคทีเรีย”, *KKU Sci. J*, 40, 4, 1049-1058 (2012).
- [3] สุพิน แสงสุข, “นาโนซิงค์ออกไซด์”, <http://www.material.chula.ac.th/Articles/nanoZing.html>, (2551).
- [4] มหาวิทยาลัยนเรศวร “ฐานข้อมูลความปลอดภัยของวัสดุนาโนไททาเนียมไดออกไซด์”, [http://web.eng.nu.ac.th/eng2012/cei/nanodatabase/printer.php?cat\\_id=1&p\\_id=6](http://web.eng.nu.ac.th/eng2012/cei/nanodatabase/printer.php?cat_id=1&p_id=6)
- [5] ภรณ์ เหล่าอิทธิ, “มะเร็งเต้านม: ระบาดวิทยา การป้องกันและแนวทางการตรวจคัดกรอง”, *Chula Med J*, 60, 5, 497-501 (2016).
- [6] มหาวิทยาลัยนเรศวร “ฐานข้อมูลความปลอดภัยของวัสดุนาโนซิงค์ออกไซด์”, [http://web.eng.nu.ac.th/eng2012/cei/nanodatabase/printer.php?cat\\_id=2&p\\_id=130](http://web.eng.nu.ac.th/eng2012/cei/nanodatabase/printer.php?cat_id=2&p_id=130).
- [7] ณัฐฉา นิยมจันทร์, “ผลของซิงค์ออกไซด์อนุภาคขนาดนาโนรูปทรงต่างๆ ที่อยู่บนผิวผ้าฝ้ายด้วยเทคนิคการปั่นด้วยไฟฟ้า เพื่อสมบัติต้านทานแสงยูวีและต้านทานแบคทีเรีย”, วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต, สาขาวิทยาการและวิศวกรรมพอลิเมอร์, ภาควิชาวิทยาการและวิศวกรรมวัสดุ, มหาวิทยาลัยศิลปากร, (2553).
- [8] SIGMA-ALDRICH, “Product Specification of Zinc oxide”, [www.sigmaaldrich.com](http://www.sigmaaldrich.com).
- [9] พรนภา สุจริตวรกุล, “ไทเทเนียมไดออกไซด์โพโตคะตะลิสต์ กับชีวิตประจำวัน”, *MTEC*, 40, 76-79 (2548).
- [10] SIGMA-ALDRICH, “Product Specification of TiO<sub>2</sub>”, [www.sigmaaldrich.com](http://www.sigmaaldrich.com).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- [11] เอกรัตน์ วงษ์แก้ว, “Synthesis and photocatalytic property of metal oxide film for self-cleaning glass application”, รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ ทุนอุดหนุนกึ่งวิจัย งบประมาณเงินรายได้, คณะวิศวกรรมศาสตร์, ภาควิชาวิศวกรรมเคมี, มหาวิทยาลัยบูรพา, (2557).
- [12] สุนัน หนองเหล็ก, “โครงสร้าง สมบัติเชิงแสง และ แม่เหล็ก ของอนุภาคนาโนคอปเปอร์ออกไซด์ร่วมระหว่าง Fe และ Pr”, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลรัตนโกสินทร์, (2559).
- [13] SIGMA-ALDRICH, “Product Specification of Copper oxide”, [www.sigmaaldrich.com](http://www.sigmaaldrich.com)
- [14] Silvia Bonetta, Sara Bonetta, Francesca Motta, Alberto Strini and Elisabetta Carraro, “Photocatalytic bacterial inactivation by TiO<sub>2</sub>-coated”, AMB Express, 3, 1, 59 (2013).
- [15] Lee Kian Mun, Abdul Halim Abdullah, Mohd Zobir Hussein and Zulkarnain Zainal, “Synthesis and Protocatalysis of ZnO/*γ*-Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Nanocomposite in Degrading Herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic Acid”, Sains Malaysiana, 43, 3, 437-441 (2014).
- [16] ราเชนทร์ โกศลวิตรและ วราภรณ์ เจียมจิตรพานิช, “การศึกษาประสิทธิภาพของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์เพื่อการบำบัดน้ำที่ปนเปื้อนสารไตรโนโตรโทลูอิล”, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, (2555).
- [17] Jincheng Liu, Lei Liu, Hongwei Bai, Yinjie Wang and Darren D. Sun, “Gram-scale production of grapheme oxide-TiO<sub>2</sub> nanorod composites: Towards high-activity photocatalytic materials”, Applied Catalysis B; Environmental, 106, 76-82 (2011).
- [18] Terry A. Egerton, Samia A. M. Kosa and Paul A. Christensen, “Photoelectrocatalytic disinfection of E. coli suspension by iron doped TiO<sub>2</sub>”, Physical Chemistry Chemical Physics, 8, 398-406 (2006).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- [19] สมศักดิ์ วรคามิน, “เรื่องของเซลล์มนุษย์และสเต็มเซลล์”, *Journal of Bureau of Alternative Medicine*, 5, 2, 5-16 (2555).
- [20] CELL BIOLABS, “Product Data Sheet of MCF-7/GFP Cell Line”, [www.cellbiolabs.com](http://www.cellbiolabs.com).
- [21] Dechawut Wanichsan, Nitat Ninchawee, Taweesak Rattanakom and Phannika Kongjuk, “An Algorithm for Hemocytometer Cell Counting based on Image Processing technique and DBSCAN”, *Information Technology Journal*, 11, 2, 56-61 (2015).
- [22] อุ่นเรือน เพชรวัลย์, “บทปฏิบัติการที่2 การนับจำนวนเซลล์สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม”.
- [23] อรสา ชูสกุล, <http://biology.ipst.ac.th/?p=2068>, (2014).
- [24] Md. Abdulla-Al-Mamun, Hailong Yang, Bashir Arhmmad and Yoshihumi Kusumoto, “Enhancement of Photocatalytic Cancer Cell-Killing Activity by Using Ag@TiO<sub>2</sub> Core-Shell Composite nanoclusters”, *NSTI-Nanotech 2009*, 2, 11-14 (2009).
- [25] ชลดา อธิการณวงศ์, “วัสดุนาโนไทเทเนียมไดออกไซด์: การสังเคราะห์โครงสร้าง และการประยุกต์ใช้”, *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี*, 14, 1, 44-52 (2555).
- [26] ศศิมา จันสุและชีวิตา สุวรรณชวลิต, “การสังเคราะห์คอปเปอร์ออกไซด์-ไทเทเนียมไดออกไซด์ โฟโตคะตะลิสต์และสมบัติการเป็นสารเร่งปฏิกิริยาด้วยแสง”, *Veridian E-Journal Science and Technology Silpakorn University*, 1, 3, 53-67 (2557).
- [27] Joanna Podorska-Carroll, Adam Myles, Brid Quiltym Declan McCormack and Rachel Fagan, “Antibacterial Properties of F-Doped ZnO Visible Light Photocatalyst”, *Journal of Hazardous Materials*, 9 (2016).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- [28] Dhanes Das, Bikash Chandra Nath, Pinkee Phukon, Amarjyoti Kalita and Swapan Kumar Dolui, “Synthesis of ZnO nanoparticles and evaluation of antioxidant and cytotoix activity”, *Colloids and Surfaces B: Biointerface*, 111, 556-560 (2013).
- [29] Charles Kittel, “Introduction to Solid State Physics 4<sup>th</sup>”, Willey Eastern Private Limited, 295-358(1974).
- [30] Rolf Koole, Esther Groeneveld, Daniel Vanmaekelbergh, Andries Meijerink and Celso de Mello Donegá, “Size Effects on Semiconductor Nanoparticles”, *Nanoparticles Workhorses of nanoscience de Mello Donega*, (2014), (<http://www.springer.com/978-3-662-44822-9>).
- [31] Yun Zhou, Ronald E. Kumon, Jianmin Cui, and Cheri Z. Deng, “The Size of Sonoporation Pores on The Cell Membrane”, *Ultrasound Med Biol*, 35, 10, 1756-1760 (2009).
- [32] Greg Kabachinski and Thomas U. Schwartz, “The nuclear pore complex-structure and function at a glance”, *Journal of Cell Science*, 128, 423-429 (2015).
- [33] Maryam Shafagh, FatemehRahmani, and NorouzDelirezh, “CuO nanoparticles induce cytotoxicity and apoptosis in human K562 cancer cell line via mitochondrial pathway, through reactive oxygen species and *P53*”, *Iran J Basic Med Sci.*, 18, 10, 993–1000 (2015).
- [34] JIJI KOSHY, SOOSEN SAMUEL, ANOOP CHANDRAN, POURNAMI VIJAYAN, K C GEORGE1, “Dielectric Properties of CuONanoparticles Prepared by Precipitation Method”, *International Journal of Chemical and Physical Sciences*, 4, 2, 72-77 (2015).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

[35] DattaryaJundale, ShaileshPawar, ManikChougule, Prasad Godse, Sanjay Patil, Bharat Raut, ShashwatiSen, VikasPatil, “NanocrystallineCuO Thin Films for H<sub>2</sub>S Monitoring: Microstructural and Optoelectronic Characterization”, Journal of Sensor Technology, 1, 36-46 (2011).

[36] Thomas Bauer, ZhikunZheng, AloisRennand A Dieter Schlüter, “Synthesis of Free-Standing, Monolayered Organometallic Sheets at the Air/Water Interface”, Angew. Chem. Int. Ed. 2011, 50, 7879 –7884 (2011).



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก

ผลงานทางวิชาการในหัวข้อ “Photocatalytic Effect of Metal Oxide Nanoparticles on Cultured Human Breast Cancer Cells” ตีพิมพ์ในวารสาร Applied Mechanics and Materials ,เผยแพร่ 2016-08-12

*Applied Mechanics and Materials*  
 ISSN: 1662-7482, Vol. 851, pp 144-148  
 doi:10.4028/www.scientific.net/AMM.851.144  
 © 2016 Trans Tech Publications, Switzerland

Submitted: 2016-03-29  
 Revised: 2016-06-09  
 Accepted: 2016-06-29  
 Online: 2016-08-12

### Photocatalytic Effect of Metal Oxide Nanoparticles on Cultured Human Breast Cancer Cells

Ladawan Suanlim<sup>1, a</sup>, Suttijit Srivatcharakul<sup>2, b</sup>, Kitsakorn Locharoenrat<sup>1, c\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Physics, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology  
 Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand  
<sup>2</sup>Department of Biology, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology  
 Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand

<sup>a</sup>kk.lada1@gmail.com, <sup>b</sup>suttijit.sr@kmitl.ac.th, <sup>c</sup>kitsakorn.lo@kmitl.ac.th (Corresponding Author)

**Keywords:** Cancer cells, Nanoparticles, Photocatalyst, Reactive oxidation species, Semiconductors

**Abstract.** We have studied the photocatalytic effect of ZnO, TiO<sub>2</sub> and CuO nanoparticles under the different wavelength of the light irradiation on the cultured human breast cancer cell line. Each nanoparticle under the different wavelength of irradiation on the cells shows the different cell-killing effect. It is found that ZnO nanoparticles irradiated under the ultraviolet C are more pronounced toxicity than CuO nanoparticles irradiated under the visible light, and TiO<sub>2</sub> nanoparticles irradiated under the ultraviolet A, respectively. The intimate contact between the cell wall and the metal oxide nanoparticles under the appropriate light irradiation causes the changes in the environment in the vicinity of cell-nanoparticles contact area. This can generate the intracellular reactive oxidation species, partly due to the electron-hole pair, that tends to damage the nucleus of the cancer cells.

**Introduction**

Nowadays cancer is one type of the human disease caused by abnormal DNA in the human body's cells. This leads the cell growth and cell proliferation to speedily increase. Cancer as a cause of the human death mostly comes from the breast cancer cell [1]. According to the statistics from National Cancer Institute, breast cancer is the most common one found in women in the US [2] and in Thailand. Therefore, the suitable method to kill the cancer cell is urgently needed. In the past decade, many researchers have tried for a group of metal oxides to kill the different types of bacteria [3-5]. Therefore, we expect that these metal oxides are possible to kill the cancer cell as well. Furthermore, the metal oxide in nano-scale is more effective than the bulk form because it can easily transport into the cells [6].

In this contribution, we have selected three types of metal oxide nanoparticles (ZnO, TiO<sub>2</sub> and CuO nanoparticles) served as photocatalyst materials under the various wavelengths of the light illumination in order to kill the human breast cancer cells. We will show and compare the cell-killing performance of these nanomaterials on the cultured cancer cells. The mechanism of the cell killing effect will be also discussed.

**Experimental**

The cell line under this study was the breast cancer cell so-called MCF-7. The first 12-well plate was filled with MCF-7 together with a culture medium (served as sample) as shown in Fig. 1(a). The last 12-well plate was added with a culture medium (served as control) as shown in Fig. 1(b). Amount of MCF-7 was 100,000 cell/mL.

All rights reserved. No part of contents of this paper may be reproduced or transmitted in any form or by any means without the written permission of Trans Tech Publications, www.ttp.net. (IP: 68832794, King Mongkut's Institute of Technology, Ladkrabang, Thailand-28/07/16, 06:35:22)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

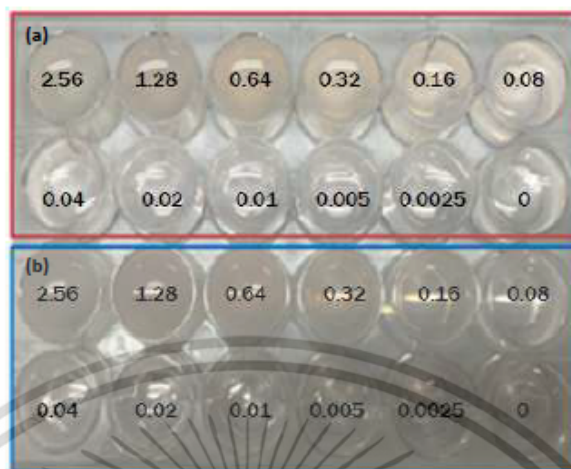


Fig. 1 (a) Wells 1-12 were MCF-7 + culture medium (served as sample). (b) Wells 13-24 were culture medium (served as control). Number shown in each well plate represented the concentration of the metal oxide nanoparticles.

After that the metal oxide nanoparticles at different concentration were filled in 24-well plate. ZnO (diameter of  $100\pm 10$  nm),  $\text{TiO}_2$  (diameter of  $100\pm 10$  nm) and CuO (diameter of  $50\pm 5$  nm) nanoparticles were purchased from Sigma Aldrich, USA. The solution of ZnO,  $\text{TiO}_2$  and CuO nanoparticles were 2.56, 1.28, 0.64, 0.32, 0.16 and 0.08, 0.04, 0.02, 0.01, 0.005, 0.0025 and 0 mg/mL. The 24-well plate was then left in the UV chamber under ultraviolet A, ultraviolet C and visible light for 24 h. After the light exposure, 0.9 mL of DI water and 0.033 mL of 2 mM ferric chloride as well as 0.067 mL of 5 mM ferrozine were added in 24-well plate and left them for 40 minutes. The 2 mL solution of each well plate was then measured for absorbance to check the ferrous ion chelating as follows.

$$\% \text{ Ferrous ion chelating} = \frac{A_s}{A_c} \times 100 \quad (1)$$

$A_s$  and  $A_c$  were absorbance of sample (MCF-7 + culture medium) and absorbance of control (culture medium), respectively.

After the cell treatment, the treated solution in each well plate was removed. The 0.5 mL of PBS buffer was filled in each well plate for 1 min to stop a reaction between cells and metal oxide nanoparticles. After the buffer was removed, 0.2 mL of trypsin was added in each well plate for 10 min in order to get the non-adherent cells. After removing trypsin, 0.4 mL of a culture medium was mixed in each well plate. The 0.1 mL of trypan blue was then added in each well plate. The final solution was loaded on hemacytometer to calculate the live-cell as the following.

$$\% \text{ Live-cell} = \frac{N_s}{N_c} \times 100 \quad (2)$$

$N_s$  and  $N_c$  were number of sample's live cells (MCF-7 + culture medium) and number of control's live cells (culture medium), respectively.

### Results and Discussion

According to the endocytosis process, any substances can transport into the cells by phagocytosis, pinocytosis and receptor-mediated endocytosis. In this study, the metal oxide nanoparticles in the solution form can transfer into the breast cancer cells by means of the

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

pinocytosis. During loading the metal oxide nanoparticles into the cancer cells, we also apply the light in order to generate the electron-hole pair. The origin of the cell-killing effect, therefore, comes from the oxidative stress induced by the reactive oxygen species generation in biological-nanoparticles systems. This can be checked by testing the amount of the ferrous ion chelating with different types of the metal oxide nanoparticles as well as counting the live cell.

Each metal oxide nanoparticles under the different wavelength of irradiation (i.e. ultraviolet A, ultraviolet C and visible light) shows the different amount of the ferrous ion chelating with the metal oxide nanoparticles. It is found that ZnO nanoparticles irradiated under the ultraviolet C shows the strongest chelating activity,  $\text{TiO}_2$  nanoparticles irradiated under the ultraviolet A displays the strongest chelating activity, whereas CuO nanoparticles irradiated under the visible light exhibits the strongest chelating activity (not shown).

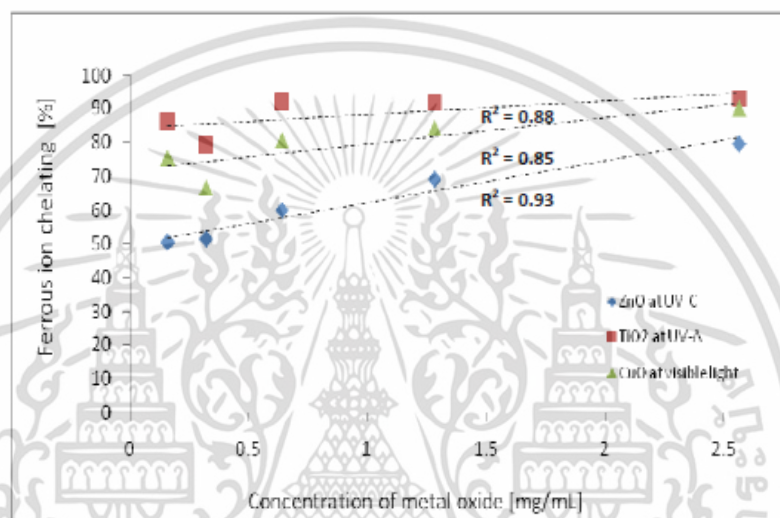


Fig. 2 Ferrous ion chelating as a function of concentration of metal oxide nanoparticles.

Fig. 2 shows that the average percentage of the ferrous ion chelating with the “initial” reactive oxygen species generation on the metal oxide nanoparticles follows in the orders:  $\text{TiO}_2 > \text{CuO} > \text{ZnO}$  nanoparticles. These measurements are quite reproducible among several runs from each sample ( $R^2 \geq 0.85$ ). Production of the reactive oxygen species on the metal oxide nanoparticles under the light illumination is related to the electronic structures of the metal oxide nanoparticles [7]. The electronic structure of metal oxide nanoparticles is characterized by the band gap that is the energy interval between the valence and the conduction bands. The excited electrons in the conduction band play the important role in the formation of the superoxide radical anion. This indicates the potential of metal oxide nanoparticles to donate electrons to oxygen. It leads to the formation of the superoxide radical anion. Meanwhile the hole in the valence band plays the important role in the formation of the hydroxyl radicals. This indicates the potential of metal oxide nanoparticles to accept electrons from water. It leads to the formation of the hydroxyl radicals. Therefore, the prominence of the “final” reactive oxygen species generation on the metal oxide nanoparticles, in which it is transported into the cancer cells, follows in the orders:  $\text{ZnO} > \text{CuO} > \text{TiO}_2$  nanoparticles.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Finally, the free radical compounds are gradually agglomerate around the nucleus of the cancer cells because the cell pore of the nucleus (39 nm) is smaller than metal oxide nanoparticles (50-100 nm) [8]. The intracellular reactive oxidation species finally tends to damage the nucleus of the cells.

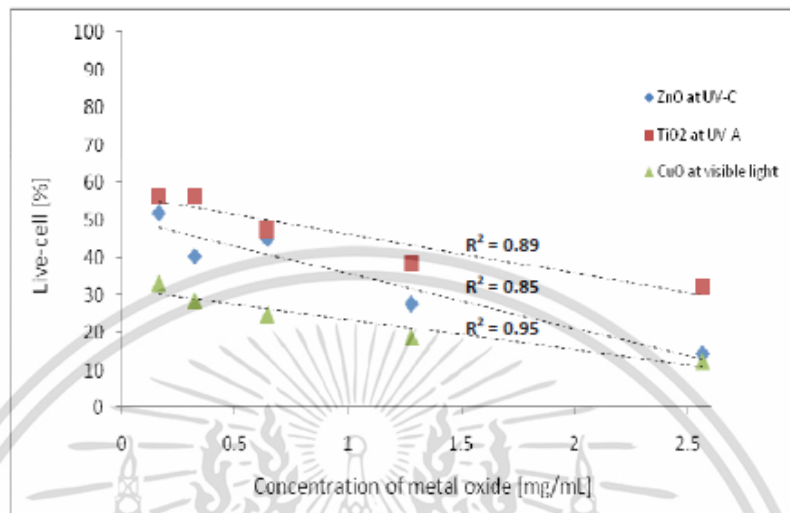


Fig. 3 Live-cell as a function of concentration of metal oxide nanoparticles.

Fig. 3 shows that the live cell after the treatment of the metal oxide nanoparticles under the appropriate light illumination follows in the orders:  $\text{TiO}_2 > \text{ZnO} > \text{CuO}$  nanoparticles. These measurements are quite reproducible among several runs from each sample ( $R^2 \geq 0.85$ ). It is found that CuO nanoparticles irradiated under the visible light is more pronounced toxicity into the cancer cells than ZnO nanoparticles irradiated under the ultraviolet C and  $\text{TiO}_2$  nanoparticles irradiated under the ultraviolet A, respectively. However, the enhanced reactive oxidation species generation power of the metal oxide nanoparticles can come from the size-dependent properties of the metal oxide nanoparticles. Since the diameter of CuO nanoparticles ( $50 \pm 5$  nm) under this study is smaller than  $\text{TiO}_2$  nanoparticles ( $100 \pm 10$  nm) and ZnO nanoparticles ( $100 \pm 10$  nm), CuO nanoparticles possibly provides more available reaction sites (large surface areas) into the nucleus of the cancer cells under the light illumination. The diffusion of CuO nanoparticles into the nucleus of the cancer cells is possible to destroy the structure of DNA of the cells. This can easily cause the death of the cells. In contrast, if a diameter of CuO nanoparticles is  $100 \pm 10$  nm, it is suggested that ZnO nanoparticles irradiated under the ultraviolet C are more pronounced toxicity than CuO nanoparticles irradiated under the visible light and  $\text{TiO}_2$  nanoparticles irradiated under the ultraviolet A, respectively. If this assumption is correct, the live-cell data from Fig. 3 would be consistent with the ferrous ion chelating data from Fig. 2. That is, the cell killing effect via the photocatalyst process of the metal oxide nanoparticles on the human breast cancer cell follows in the orders:  $\text{ZnO} > \text{CuO} > \text{TiO}_2$  nanoparticles. These findings are in agreement well with Ref. [9], however, they have tested the toxicity of metal oxide on the bacteria.

To our knowledge, the dosage of metal oxide nanoparticles should not go over 2.56 mg/mL because they result in destruction of the red blood cells or normal cells [10]. We are now trying for nanodiamonds ( $10 \pm 1$  nm) on the breast cancer cells in which their diameters are smaller than metal oxide nanoparticles. The unique properties of nanodiamonds are low impurity and low toxicity as compared with the metal oxide nanoparticles. The nanodiamonds bounded with cancer chemotherapy with less quantity than metal oxide nanoparticles is therefore expected to get better results for killing the cancer cell. These results will be presented in our next paper.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### Conclusion

We have studied the difference in photoactivity of the metal oxide nanoparticles, such as ZnO, TiO<sub>2</sub> and CuO nanoparticles under the different wavelength of the light irradiation on the cultured human breast cancer cells. The intimate contact between the cell wall and metal oxide nanoparticles under the appropriate light irradiation may cause changes in the environment in the vicinity of the cell-nanoparticles contact area. Under this light illumination, the electron-hole pairs exist and generate the reactive oxidation species. They can damage the nucleus of the cells. We have checked this cell killing effect by testing the amount of the ferrous ion cheating with different types of metal oxide nanoparticles as well as counting the live cell. Our findings indicate that the cell killing effect from ZnO nanoparticles irradiated under the ultraviolet C is more dominant than CuO nanoparticles irradiated under the visible light, and TiO<sub>2</sub> nanoparticles irradiated under the ultraviolet A, respectively.

### References

- [1] B. Chakravarti, J. Ravi, R. K. Ganju, Cannabinoids as therapeutic agents in cancer: Current status and future implications, *Oncotarget*, 5(15) (2014) 5852-5872.
- [2] Information on <http://www.cancerresearchuk.org/health-professional/cancer-statistics>
- [3] J. W. Rasmussen, E. Martinez, P. Louka, D. G. Wingett, Zinc oxide nanoparticles for selective destruction of tumor cells and potential for drug delivery applications, *Expert Opin. Drug Deliv.* 7(9) (2010) 1063-1077.
- [4] J. Lee, Y. H. Lee, J. S. Choi, K. S. Park, K. S. Chang, M. Yoon, Hydrothermal synthesis of defective TiO<sub>2</sub> nanoparticles for long-wavelength visible light-photocatalytic killing of cancer cells, *RSC Adv.* 121 (2015) 99789-99796.
- [5] J. Ren, W. Wang, S. Sun, L. Zhang, L. Wang, J. Chang, Crystallography facet-dependent antibacterial activity: The case of Cu<sub>2</sub>O, *Ind. Eng. Chem. Res.* 50(17) (2011) 10366-10369.
- [6] Y. W. Wang, A. Cao, Y. Jiang, X. Zhang, J. H. Liu, Y. Liu, H. Wang, Superior antibacterial activity of zinc oxide/graphene oxide composites originating from high zinc concentration localized around bacteria, *ACS Appl. Mater. Interf.* 6(4) (2014) 2791-2798.
- [7] A. Nel, T. Xia, L. Madler, N. Li, Toxic potential of materials at the nanolevel, *Sci.* 311 (2006) 622-627.
- [8] H. B. Man, H. Kim, H. J. Kim, E. Robinson, W. K. Liu, E. K. H. Chow, D. Ho, Synthesis of nanodiamond-daunorubicin conjugates to overcome multidrug chemoresistance in leukemia, *Nanomed. Nanotechnol. Biol. Med.* 10 (2014) 359-369.
- [9] M. Heinlaan, A. Ivask, I. Blinova, H. C. Dubourgier, A. Kahru, Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO<sub>2</sub> to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus*, *Chemosphere*, 71 (2008) 1308-1316.
- [10] D. Das, B. C. Nath, P. Phukon, A. Kalita, S. K. Dolui, Synthesis of ZnO nanoparticles and evaluation of antioxidant and cytotoxic activity, *Coll. Surf. B: Biointerf.* 111 (2013) 556-560.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ - สกุล	นางสาวลดาวัลย์ ช้วนลิ้ม
วัน เดือน ปีเกิด	18 กันยายน พ.ศ. 2534
ที่อยู่ปัจจุบัน	106/70 หมู่บ้าน พฤษภาทาวน์ ถนนราชพฤกษ์ ตำบลบางกร่าง อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี
ประวัติการศึกษา	2557 วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขา ฟิสิกส์ประยุกต์ เกรดเฉลี่ย 2.76 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 2559 วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขา ฟิสิกส์ประยุกต์ เกรดเฉลี่ย 3.68 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนอุดหนุนการศึกษาในระดับมหาบัณฑิตศึกษาของคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ผลงานทางวิชาการ	2016 “Photocatalytic Effect of Metal Oxide Nanoparticles on Cultured Human Breast Cancer Cells” ตีพิมพ์ในวารสาร Applied Mechanics and Materials ,Online: 2016-08-12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้