

การหาปริมาณครีอะตินินในปัสสาวะโดยใช้อนุภาคทองคำนาโนซึ่งเตรียมจากแผ่นทองคำเปลวเป็นเซนเซอร์ในการตรวจวัดทางเคมี

DETERMINATION OF CREATININE IN URINE USING
GOLD NANOPARTICLES PREPARED FROM GOLD LEAF
AS CHEMICAL SENSOR



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2559

การหาปริมาณครีเอตินินในปัสสาวะโดยใช้อนุภาคทองคำนาโนซึ่งเตรียมจากแผ่นทองคำเปลวเป็นเซนเซอร์ในการตรวจวัดทางเคมี

DETERMINATION OF CREATININE IN URINE USING
GOLD NANOPARTICLES PREPARED FROM GOLD LEAF
AS CHEMICAL SENSOR



เลขหมู่.....
เลขทะเบียน..... 149506
วันเดือนปี..... 8 ส.ค. 2561

b. 12884340
i.

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

DETERMINATION OF CREATININE IN URINE USING
GOLD NANOPARTICLES PREPARED FROM GOLD LEAF
AS CHEMICAL SENSOR



A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE
REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE
(INDUSTRIAL CHEMISTRY)

DEPARTMENT OF CHEMISTRY, FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2016

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ

การหาปริมาณครีอะตินินในปัสสาวะ โดยใช้อนุภาคทองคำนาโนซึ่งเตรียมจากแผ่นทองคำเปลวเป็นเซนเซอร์ในการตรวจวัดทางเคมี
 Determination of Creatinine in Urine using Gold Nanoparticles prepared from Gold Leaf as Chemical Sensor

ชื่อนักศึกษา

นางสาวคณิศา ทิพย์อนันตกุล รหัสนักศึกษา 56050450
 นางสาวปริญญา เกาทอง รหัสนักศึกษา 56050531
 นางสาวพิมพ์มาดา อ้อยบำรุง รหัสนักศึกษา 56050551

ปริญญา

วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)

ภาควิชา

เคมี

ปีการศึกษา

2559

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชั้น

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2559

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร.เสาวภาคย์ อีราทรง กรรมการ	
ผศ.ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชั้น กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การหาปริมาณครีอะตินินในปัสสาวะ โดยใช้อนุภาคทองคำนาโนซึ่งเตรียมจากแผ่นทองคำเปลวเป็นเซนเซอร์ในการตรวจวัดทางเคมี		
ชื่อนักศึกษา	นางสาวคณิศรา	ทิพย์อนันตกุล	รหัสนักศึกษา 56050450
	นางสาวปริญญา	เกาทอง	รหัสนักศึกษา 56050531
	นางสาวพิมพ์มาดา	อ้อยบำรุง	รหัสนักศึกษา 56050551
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)		
ภาควิชา	เคมี		
คณะ	วิทยาศาสตร์		
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)		
ปีการศึกษา	2559		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณัฐวดี เจริญชัย		

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ ได้ทำการสังเคราะห์อนุภาคทองคำนาโนจากแผ่นทองคำเปลวด้วยวิธีอย่างง่ายและราคาประหยัด เริ่มจากละลายทองคำเปลวด้วยกรดกัดทอง พร้อมให้ความร้อน จนทองคำเปลวละลายแล้วจึงนำสารละลายทองคำเปลวที่ได้ ไปใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์อนุภาคทองคำนาโนตามวิธีของเทอร์คิวิช โดยอาศัยโพลีไวนิลแอลกอฮอล์เป็นสารรักษาความเสถียร พบว่าสารละลายอนุภาคทองคำระดับนาโนที่สังเคราะห์ได้ มีสีแดงไวน์และมีการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 531 นาโนเมตร จากนั้นจึงนำอนุภาคทองคำนาโนที่สังเคราะห์ได้ไปใช้เป็นเซนเซอร์ทางเคมีสำหรับตรวจวัดครีอะตินิน พบว่าครีอะตินินกับอนุภาคทองคำนาโนเกิดการรวมตัวกันตามทฤษฎี Hard-Soft Acid-Base (HSAB) โดยสังเกตจากสีของสารละลายเปลี่ยนจากสีแดงไวน์เป็นสีน้ำเงิน และมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร เมื่อสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ 650 ต่อ 531 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานครีอะตินิน จะได้ช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ระหว่างความเข้มข้น 1 - 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ($Abs_{650/531} = 0.0034[Creatinine] + 0.2103$) มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (r^2) เท่ากับ 0.988 จากการศึกษาคุณลักษณะของวิธี พบว่า ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับร้อยละ 4.5, 4.9 และ 2.8 เมื่อศึกษาที่ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานครีอะตินินเท่ากับ 1, 50 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ จึงกล่าวได้ว่าวิธีนี้มีความเที่ยงสูง ยังพบอีกว่า ค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (3SD of blank/slope) เท่ากับ 3.6 มิลลิกรัมต่อลิตร และขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (10SD of blank/slope) เท่ากับ 11.9 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตาม เมื่อทำการตรวจวัดหาปริมาณครีอะตินินในตัวอย่างปัสสาวะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลับไม่พบการรวมตัวกันระหว่างอนุภาคทองนาโนกับครีอะตินิน เนื่องจากอาจมีตัวรบกวนในปัสสาวะที่ยับยั้งกลไกการรวมตัว ซึ่งจะต้องทำการศึกษาการเตรียมตัวอย่างปัสสาวะเพิ่มเติมต่อไป

คำสำคัญ : ทองคำเปลว, อนุภาคทองระดับนาโน, ครีอะตินิน, ปัสสาวะ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Determination of Creatinine in Urine using Gold Nanoparticles prepared from Gold Leaf as Chemical Sensor		
Students	Miss Kanisa Tipanantakun	Student ID 56050450	
	Miss Parinya Thaothong	Student ID 56050531	
	Miss Pimmada Ooybumrung	Student ID 56050551	
Degree	Bachelor of Science (Industrial Chemistry)		
Department	Chemistry		
Faculty	Science		
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)		
Academic Year	2016		
Advisor	Asst. Prof. Dr. Nathawut Choengchan		

Abstract

This work presents a simple and cost-effective method for synthesis of gold nanoparticles (AuNPs) from gold leaf. The procedure was begun with dissolution of gold leaf by aqua regia with heating. This gold leaf solution was exploited as starting reagent for synthesis of AuNPs based on Turkevich's method. Polyvinyl alcohol was used as stabilizer. Maximum absorption wavelength (λ_{\max}) of the red wine-colored AuNPs solution was located at 531 nm. This synthesized AuNPs was then served as chemical sensor for determination of creatinine. The color of the AuNPs solution was changed from red wine to blue when the analyte was added into the sensor solution. This is because of aggregation between the particles and creatinine which is obeyed Hard-Soft Acid-Base theory. It was observed that λ_{\max} was shifted to 650 nm. Calibration between absorbance ratio and concentration of standard creatinine was made and linearity was found in the range of 1 to 200 mg L⁻¹ ($Abs_{650/531} = 0.0034[\text{Creatinine}] + 0.2103, r^2 = 0.988$). Other analytical characteristics were also evaluated. The results are listed as the followings: RSD = 4.5 % (at 1 mg L⁻¹), 4.9 % (at 50 mg L⁻¹) and 2.8 % (at 200 mg L⁻¹). LOD (3SD of blank/slope) = 3.6 mg L⁻¹ and LOQ (10SD of blank/slope) = 11.9 mg L⁻¹. However, there was no evidence of aggregation when the synthesized sensor was applied to detect spiked creatinine in human urine. This may be due to inhibitory effect of some interference existed in

urine on aggregation. Sample pretreatment prior to measurement will be therefore studied in the next investigation.

Keywords : Gold leaf, Gold Nanoparticles, Creatinine, Urine



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษเรื่องการหาปริมาณครีอะตินินในปัสสาวะโดยใช้อนุภาคทองคำโนซึ่งเตรียมจากแผ่นทองคำเปลวเป็นเซนเซอร์ในการตรวจวัดทางเคมี สำเร็จลงได้ด้วยความสำเร็จจากความกรุณาจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณัฐวุฒิ เชิงชั้น อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ ผู้ซึ่งกรุณาให้ความรู้ คำปรึกษา และข้อเสนอแนะ ตลอดจนตรวจทานแก้ไขโครงการพิเศษจนเสร็จสมบูรณ์ ผู้เขียนจึงขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้ด้วย

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ ที่กรุณาได้รับเป็นประธานกรรมการสอบโครงการพิเศษ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เสาวภาคย์ อีราทรง ที่กรุณาเป็นกรรมการสอบโครงการพิเศษ ตลอดจนให้คำแนะนำและแก้ไขรูปเล่มเป็นอย่างดีอันเป็นประโยชน์ยิ่งต่อการทำโครงการพิเศษในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณหน่วยวิจัยเคมีวิเคราะห์เชิงประยุกต์ และขอขอบพระคุณคณาจารย์ เจ้าหน้าที่ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ขอบคุณ คุณอาจณรงค์ เมธาวิสรเสรีญ รวมถึงนักศึกษาระดับปริญญาโทและเอกทุกท่านในหน่วยวิจัยเคมีวิเคราะห์เชิงประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังทุกท่าน ที่ได้ประสิทธิ์ ประสาทวิชาในระดับบัณฑิตศึกษา

ขอขอบพระคุณบิดามารดา ที่ให้การสนับสนุนโอกาสทางการศึกษา และเป็นกำลังใจ จนกระทั่งจบการศึกษา รวมทั้งเพื่อนๆ ที่คอยเป็นกำลังใจให้ตลอดมา

ท้ายสุดนี้ หากมีความผิดพลาดประการใด ผู้เขียนต้องขออภัยเป็นอย่างสูง และผู้เขียนหวังว่าโครงการพิเศษเล่มนี้จะเป็นประโยชน์บ้างไม่มากก็น้อย

คณิศา ทิพย์อนันตกุล

ปริญญญา เถาทอง

พิมพ์มาตา อ้อยบำรุง

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ค
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ณ
สารบัญรูป	ญ
คำย่อ/สัญลักษณ์	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	2
1.4 วิธีการดำเนินงาน.....	2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 หน้าที่การทำงานของไต.....	3
2.2 ครีเอตินิน.....	3
2.3 วิธีการตรวจวัดหาปริมาณครีเอตินิน.....	4
2.3.1 วิธี alkaline picrate Jaffe'e reaction.....	4
2.3.2 วิธีเอนไซม์.....	5
2.3.3 วิธีอื่นๆ.....	8
2.4 นาโนเทคโนโลยีและอนุภาคทองระดับนาโน.....	10
2.4.1 อนุภาคทองระดับนาโน.....	10
2.4.2 การเกิดเซอ์เฟส พลาสมอน เรโซแนนซ์.....	12
2.5 ทองคำเปลว.....	13
2.5.1 กรรมวิธีการผลิต.....	13
2.5.2 ประเภทของทองคำเปลว.....	14
2.6 เครื่องยิวรี - วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์.....	14
2.6.1 ส่วนประกอบของเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์.....	17
2.7 หลักการตรวจวัดที่ใช้.....	20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	21
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	24
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์	24
3.1.1 สารเคมี.....	24
3.1.2 อุปกรณ์	24
3.2 การเตรียมสารละลาย	25
3.2.1 การเตรียมสารละลายสำหรับการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโน ด้วยกรดเตตระคลอโรอริคเกอร์ดิเคราะห์	25
3.2.2 การเตรียมสารละลายสำหรับการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโน ด้วยกรดเตตระคลอโรอริคจากทองคำเปลว	25
3.2.3 การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการตรวจวัดครีอะตินิน.....	26
3.2.4 การเตรียมตัวอย่างปัสสาวะ.....	26
3.2.5 การเตรียม spike smple.....	27
3.3 วิธีการทดลอง	27
3.3.1 ศึกษาวิธีการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนโดยใช้ Turkevich method ด้วยเกลือของทอง.....	27
3.3.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์อนุภาคทองนาโนที่เตรียมจาก เกลือของทอง.....	27
3.3.3 ศึกษาวิธีการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนโดยใช้ Turkevich method จากทองคำเปลว.....	28
3.3.4 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการละลายแผ่นทองคำเปลวและการสังเคราะห์ อนุภาคทองนาโนจากทองคำเปลว	28
3.3.5 ศึกษาหลักการตรวจวัดครีอะตินินด้วยอนุภาคทองนาโน	29
3.3.6 ศึกษาความเที่ยงของการตรวจวัด.....	29
3.3.7 ศึกษาการหาขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดและขีดจำกัดต่ำสุดของการ วิเคราะห์เชิงปริมาณ.....	30
3.3.8 ศึกษาอิทธิพลการเจือจางตัวอย่างปัสสาวะ.....	30
3.3.9 ศึกษาการหาครีอะตินินในตัวอย่างปัสสาวะด้วยอนุภาคทองนาโนจาก ทองคำเปลว.....	30
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล	31
4.1 การสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโน	31
4.2 การศึกษาปฏิกิริยาการตรวจวัดครีอะตินินด้วยอนุภาคทองระดับนาโน.....	32
4.3 การศึกษาอิทธิพลของตัวแปรที่ส่งผลต่อการตรวจวัด.....	33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1	อิทธิพลของความเข้มข้นทองคำนาโนในการตรวจวัด.....	33
4.3.2	อิทธิพลของเวลาในการตรวจวัด.....	34
4.4	การศึกษาการละลายแผ่นทองคำเปลวและการเตรียมอนุภาคทองคำนาโนจากทองคำเปลว.....	36
4.4.1	อิทธิพลของปริมาตรกรดกัดทองที่เหมาะสมในการละลายแผ่นทองคำเปลว.....	36
4.4.2	อิทธิพลของความเข้มข้นของกรดกัดทองที่เหมาะสมในการละลายแผ่นทองคำเปลว.....	37
4.4.3	อิทธิพลของเวลาที่ใช้ในการละลายแผ่นทองคำเปลว.....	38
4.4.4	อิทธิพลของพีเอช.....	39
4.4.5	ความเข้มข้นของ PVA ที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์ AuNPs.....	40
4.4.6	ศึกษาความเข้มข้นของไตรโซเดียมซิเตรทที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์อนุภาคทองคำนาโน.....	42
4.5	การศึกษาความเสถียรของอนุภาคทองคำนาโนที่สังเคราะห์จากทองคำเปลว.....	43
4.6	การใช้อนุภาคทองคำนาโนที่เตรียมจากแผ่นทองคำเปลวเป็นตัวตรวจวัดครีอะตินิน.....	44
4.7	การศึกษาคุณลักษณะของวิธีตรวจวัดครีอะตินินด้วยอนุภาคทองคำนาโน.....	45
4.7.1	ความเที่ยงของการตรวจวัด.....	45
4.7.2	ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดและขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ.....	46
4.8	การศึกษาการเจือจางตัวอย่างปัสสาวะที่เหมาะสม.....	47
4.9	การศึกษาการตรวจวัดครีอะตินินในตัวอย่างปัสสาวะด้วยอนุภาคทองคำนาโนจากแผ่นทองคำเปลว.....	47
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....		49
เอกสารอ้างอิง.....		51
ภาคผนวก.....		54
ภาคผนวก ก.....		55
ภาคผนวก ข.....		57
ภาคผนวก ค.....		59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ผลการทบทวนและศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องสรุป.....	23
4.1 สรุปสภาวะที่เหมาะสมในการละลายแผ่นทองคำเปลว.....	39
4.2 สรุปสภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์อนุภาคทองจากทองคำเปลว.....	43
4.3 แสดงค่าสัมประสิทธิ์ความแปรผันที่ความเข้มข้น 1, 50 และ 200 ppm.....	46
4.4 แสดงค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดและขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ.....	46
4.5 แสดงผลการเจือจางตัวอย่างปัสสาวะ.....	47



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 แผนภาพการแย่งจับกันระหว่างครีอะตินินที่ถูกตรึงไว้บน platinum electrode และครีอะตินินในตัวอย่างตรวจ.....	9
2.2 ผลการตรวจวัดปริมาณครีอะตินินโดยอาศัยหลักการทำงานของเอนไซม์.....	10
2.3 แผนภาพในการตรวจวัดครีอะตินินในตัวอย่างตรวจด้วยหลักการ strip.....	10
2.4 รูปร่างต่างๆ ของอนุภาคทองระดับนาโน	11
2.5 สีของสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนทรงกลมที่ขนาด 40 - 100 นาโนเมตร.....	11
2.6 การเกิดเซอร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์ ของอนุภาคทองทรงกลม	12
2.7 แถบสเปกตรัมของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า.....	15
2.8 แผนภาพการเปลี่ยนระดับชั้นพลังงานของอิเล็กตรอนภายในโมเลกุล.....	15
2.9 แผนภาพส่วนประกอบของเครื่อง UV - Vis spectrophotometer แบบลำแสงเดี่ยว	16
2.10 แผนภาพส่วนประกอบของเครื่อง UV - Vis spectrophotometer แบบลำแสงคู่	17
2.11 แผนภาพเครื่องยูวี - วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์.....	17
2.12 ภาพหลอดดิวเทอเรียม และ หลอดทั้งสแตน.....	18
2.13 ภาพตัวอย่าง cuvettes แบบต่างๆ.....	19
2.14 ภาพตัดขวางของหลอด PMT และ ลักษณะหลอด PMT.....	19
2.15 แผนภาพสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่มีไดโอดอาร์เรย์เป็นตัวตรวจจับสัญญาณ	20
2.16 แผนภาพการเกิดปฏิกิริยาของอนุภาคทองนาโนกับครีอะตินิน.....	20
4.1 กราฟสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโน.....	31
4.2 กราฟสเปกตรัมการดูดกลืนแสงการรวมตัวของอนุภาคทองระดับนาโนกับครีอะตินิน.....	32
4.3 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาระหว่างอนุภาคทองนาโนกับครีอะตินิน.....	33
4.4 กราฟมาตรฐานความเข้มข้นทอง.....	33
4.5 สเปกตรัมการรวมตัวของอนุภาคทองนาโนกับครีอะตินินที่เวลาในการตรวจวัดต่างๆ.....	34
4.6 กราฟอัตราการเกิดปฏิกิริยาการรวมตัวกันของอนุภาคทองนาโนกับครีอะตินิน	35
4.7 กราฟเปอร์เซ็นต์การละลายของทองคำเปลวและร้อยละผลิตภัณฑ์เทียบกับ ความเข้มข้นของกรดกัดทองที่ใช้ในการละลาย	36
4.8 กราฟเปอร์เซ็นต์การละลายของทองคำเปลวและร้อยละผลิตภัณฑ์เทียบกับ ปริมาตรกรดกัดทองที่ใช้ในการละลาย	37
4.9 กราฟเปอร์เซ็นต์การละลายของทองคำเปลวและร้อยละผลิตภัณฑ์เทียบกับ เวลาที่ใช้ในการละลาย.....	38

4.10 สเปกตรัมของ AuNPs ที่สังเคราะห์จาก HAuCl₄ ที่ได้จากการใช้กรดกัดทอง
 เข้มข้น 80%..... 39

4.11 สเปกตรัมของ AuNPs ที่สังเคราะห์จาก HAuCl₄ ที่ได้จากการละลายทองคำเปลว
 และใช้ PVA ความเข้มข้นต่างๆ 40

4.12 สเปกตรัมของ AuNPs เมื่อใช้ Sodium citrate ความเข้มข้นต่างๆ 42

4.13 กราฟแท่งแสดงความเสถียรของอนุภาคทองคำจากการสังเคราะห์ทองคำเปลว 43

4.14 สเปกตรัมการรวมตัวของอนุภาคทองคำกับครีอะตินินที่เวลาในการผสมที่ 3 นาที 44

4.15 กราฟแสดงความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัดครีอะตินินด้วยอนุภาคทองคำ
 ที่สังเคราะห์ได้จากแผ่นทองคำเปลว..... 45

4.16 สเปกตรัมการรวมตัวของอนุภาคทองคำกับครีอะตินิน..... 48



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อ/สัญลักษณ์

คำย่อ/สัญลักษณ์	คำอธิบาย
AuNPs (Gold nanoparticles)	อนุภาคทองคำระดับนาโน
HAuCl ₄	กรดเตตระคลอโรออริก
Citrate	ไตรโซเดียมซิเตรท
PVA	โพลีไวนิลแอลกอฮอล์
SPR	Surface Plasmon Resonance
mg/dL	มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร
mL	มิลลิลิตร
μL	ไมโครลิตร
ppm	ส่วนต่อหนึ่งล้านส่วน
mM	มิลลิโมลาร์
M	โมลาร์
g	กรัม
LOD	ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด
LOQ	ขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ
RSD	ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา [1, 2]

ครีเอตินิน เป็นสารที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติในร่างกายที่มาจากการสร้างพลังงานของกล้ามเนื้อหรือการสลายตัวของครีเอทีน โดยครีเอตินินจะถูกสร้างขึ้นด้วยปริมาณคงที่ และถูกกำจัดออกจากเลือดโดยผ่านการกรองของหน่วยไต ขับออกมาทางปัสสาวะเกือบทั้งหมดด้วยปริมาณคงที่ โดยคนปกติจะมีปริมาณครีเอตินินในปัสสาวะดังนี้ เพศชาย 29 - 278 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (mg/dL) เพศหญิง 29 - 226 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (mg/dL) หากพบว่าปริมาณ ครีเอตินินผิดไปจากค่าปกตินี้ อาจเป็นสัญญาณที่บ่งบอกถึงประสิทธิภาพการทำงานของไตที่อาจจะลดลง ดังนั้นการตรวจวัดปริมาณครีเอตินินในปัสสาวะจึงใช้เป็นดัชนีวัดภาวะโรคไตได้ โดยการตรวจวัดปริมาณครีเอตินินในปัสสาวะมีอยู่ด้วยกันหลายวิธี และหลักการที่นิยมใช้ในปัจจุบัน คือหลักการของแจฟฟี (alkaline picrate Jaffe'e reaction) โดยมีจุดเด่นในเรื่องตรวจวัดได้ง่ายแต่ยังมีข้อเสียในเรื่องสารเคมีที่ใช้ทดสอบเป็นสารอันตรายใช้ในการผลิตวัตถุระเบิด และยังมีสารรบกวนตัวอื่นๆ ที่ไม่ใช่ครีเอตินินซึ่งสามารถเกิดปฏิกิริยาได้ เช่น วิตามินซี โปรตีน กลูตาไทโอน กลูโคส อลูมิเนียม เป็นต้น

ในปัจจุบันอนุภาคของระดับนาโนได้ถูกนำมาใช้เป็นเซนเซอร์ในการตรวจวัดสารทางชีวภาพอย่างแพร่หลาย เนื่องจากอนุภาคของระดับนาโนเป็นอนุภาคที่มีความเสถียรและมีสมบัติทางแสงที่เป็นเอกลักษณ์ สามารถทำการตรวจวัดจากการเทียบสีที่เปลี่ยนไปได้ด้วยตาเปล่าหรือตรวจวัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ อย่างไรก็ตามถึงแม้อนุภาคของระดับนาโนจะมีจุดเด่นในเรื่องของคุณสมบัติทางแสงที่สามารถทำให้ตรวจวัดผลได้ง่าย แต่ยังมีข้อจำกัดในเรื่องของการสังเคราะห์อนุภาคของนาโนซึ่งใช้สารตั้งต้นที่มีราคาสูง

ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีวัตถุประสงค์ที่จะพัฒนาวิธีการตรวจหาปริมาณครีเอตินินในปัสสาวะ โดยการสังเคราะห์อนุภาคของนาโนจากแผ่นทองคำเปลว เพื่อนำมาประยุกต์ใช้เป็นเซนเซอร์ในการตรวจวัดครีเอตินิน ด้วยวิธีการเกิดสีของปฏิกิริยาดัวยอนุภาคของนาโน (Gold nanoparticles colorimetric) โดยสีที่เกิดขึ้นจะเปลี่ยนจากแดงไปเป็นม่วงเมื่ออนุภาคทองเกิดการรวมตัวกับครีเอตินิน ซึ่งการนำอนุภาคของนาโนที่สังเคราะห์จากแผ่นทองคำเปลวมาประยุกต์ใช้ จะช่วยทำให้ลดต้นทุนและค่าใช้จ่ายในการตรวจวิเคราะห์ได้มาก

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1) เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับละลายแผ่นทองคำเปลวด้วยกรดกัตทอง (Aqua regia)
- 2) เพื่อศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนจากแผ่นทองคำเปลวด้วยวิธีเทอร์คิวิช
- 3) เพื่อศึกษาหลักการตรวจวัดครีอะดินินโดยอาศัยการรวมตัวของอนุภาคทองระดับนาโน
- 4) เพื่อประยุกต์วิธีที่พัฒนาขึ้นสำหรับหาปริมาณครีอะดินินในตัวอย่างปัสสาวะ

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้เริ่มจากศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการตรวจหาปริมาณ ครีอะดินิน และการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนจากแผ่นทองคำเปลว จากนั้นจึงเริ่มทำการสังเคราะห์อนุภาคทองนาโน แล้วนำไปศึกษาค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี - วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ และจึงศึกษาหลักการที่ใช้ในการหาปริมาณครีอะดินิน ซึ่งอาศัยปฏิกิริยาการรวมตัวกันของอนุภาคทองนาโนในสภาวะที่มีครีอะดินิน จากนั้นได้ทำการศึกษาอิทธิพลที่มีผลต่อการหาปริมาณ เช่น อิทธิพลของความเข้มข้นของอนุภาคทองนาโน, ความเข้มข้นครีอะดินิน, ปริมาตรที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาและอิทธิพลของพีเอช (pH) เป็นต้น เพื่อเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการทำการทดลอง จากนั้นจึงทำการทดลองเมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมแล้วก็ทำการตรวจครีอะดินินในปัสสาวะ จากนั้นสรุปผลการทดลองและนำมาอภิปรายผล

จากขอบเขตงานวิจัยทั้งหมด สรุปเป็นขั้นตอนได้ดังนี้

- 1) ศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการหาปริมาณครีอะดินิน และการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนจากแผ่นทองคำเปลว
- 2) ทำการสังเคราะห์อนุภาคทองนาโนจากแผ่นทองคำเปลวด้วยวิธีเทอร์คิวิช แล้วนำไปศึกษาค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี - วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์
- 3) ศึกษาหลักการที่ใช้หาปริมาณครีอะดินินโดยอาศัยการรวมตัวของอนุภาคทองนาโน
- 4) ทำการทดลองหาปริมาณครีอะดินินโดยอาศัยการรวมตัวของอนุภาคทองนาโน
- 5) ศึกษาอิทธิพลที่มีผลต่อการทดลอง
- 6) สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) ได้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการละลายแผ่นทองคำเปลวด้วยกรดกัตทอง
- 2) ทราบถึงวิธีการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนจากแผ่นทองคำเปลว โดยใช้วิธีเทอร์คิวิช
- 3) ทราบถึงวิธีการตรวจวัดครีอะดินินโดยอาศัยการรวมตัวของอนุภาคทองนาโน
- 4) สามารถนำอนุภาคทองนาโนที่สังเคราะห์ได้จากแผ่นทองคำเปลวมาประยุกต์ใช้ตรวจวัดปริมาณครีอะดินินในตัวอย่างปัสสาวะได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 หน้าที่การทำงานของไต [3]

ไตเป็นอวัยวะส่วนหนึ่งของระบบทางเดินปัสสาวะ และยังเป็นอวัยวะที่สำคัญของร่างกาย เช่นเดียวกับอวัยวะอื่นๆ ซึ่งจะมีลักษณะคล้ายเมล็ดถั่ว มีความยาวโดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางได้ประมาณ 11 – 12 เซนติเมตร และหนักข้างละ 150 กรัม ไตแต่ละข้างจะประกอบไปด้วยหน่วยไตเล็กๆ ที่เรียกว่า เนฟรอน (Nephron) ซึ่งมีอยู่ข้างละประมาณ 1.0 ล้านหน่วย แต่ละหน่วยประกอบไปด้วย กรวยไต (glomerulus) ทำหน้าที่กรองของเสียออกจากเลือดและท่อของหน่วยไต (convoluted tubule) ทำหน้าที่ขับถ่ายและดูดซึมสารที่จำเป็นกลับสู่ร่างกาย

หน้าที่สำคัญของไตมีอยู่ 3 ประการ ได้แก่ 1) หน้าที่ในการกำจัดของเสียออกจากร่างกายที่เกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) หรือเกิดจากสารพิษ และสารแปลกปลอม 2) ทำหน้าที่ปรับสมดุลของน้ำ เกลือแร่ และควบคุมความเป็นกรด - ด่างของของเหลวในร่างกาย และ 3) ทำหน้าที่สร้างฮอร์โมน เพื่อกระตุ้นการสร้างเม็ดเลือดแดงและช่วยควบคุมความดันโลหิตให้อยู่ในระดับคงที่ ได้แก่ เรนิน (renin) อีริโทโพอิติน (erythropoietin) และวิตามินดี (vitamin D) ทำให้ร่างกายมีปริมาณเลือดเลี้ยงส่วนต่างๆ ของร่างกายได้อย่างเพียงพอ

ของเสียที่เกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึมนั้นส่วนใหญ่จะประกอบไปด้วย ยูเรีย (urea) ประมาณร้อยละ 45 กรดอะมิโน (amino acid) ประมาณร้อยละ 25 และ กรดยูริก (uric acid) ครีเอตินิน ครีเอทีน แอมโมเนีย (NH_3) ประมาณร้อยละ 15 เป็นต้น ซึ่งสารประกอบ ยูเรีย ครีเอตินิน และกรดยูริก มีความสำคัญกับโรคไต เพราะเป็นของเสียที่ร่างกายไม่ต้องการ จึงถูกขับออกจากร่างกายโดยไต ดังนั้นเมื่อสารเหล่านี้ถูกขับถ่ายออกมาทางปัสสาวะในปริมาณที่มากเกินไป จึงสามารถเป็นตัวบ่งชี้ในการตรวจสอบสมรรถภาพการทำงานของไตได้เช่นกัน

2.2 ครีเอตินิน (Creatinine) [4]

ครีเอตินิน เป็นสารที่เกิดจากการสลายตัวของครีเอทีนฟอสเฟต (creatine phosphate) ซึ่งที่มีหน้าที่เป็นแหล่งพลังงานเกี่ยวกับการยึด หรือหดตัวของกล้ามเนื้อ ในแต่ละวันจะมีครีเอทีนประมาณร้อยละ 1 - 2 ถูกเปลี่ยนเป็นครีเอตินิน ปริมาณครีเอตินินที่ถูกขับออกมาจะขึ้นอยู่กับ muscle mass ของแต่ละคน

ครีเอตินินเป็นตัวบ่งชี้สำคัญที่ทำให้สามารถประเมินประสิทธิภาพการทำงานของไตได้ เนื่องจากครีเอตินินเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่เกิดจากกระบวนการเมตาบอลิซึมภายในเซลล์กล้ามเนื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยครีเอตินินจะถูกสร้างขึ้นภายในร่างกายด้วยปริมาณที่คงที่ และจะถูกกำจัดออกจากเลือดโดยผ่านการกรองของหน่วยไต และขับออกมาทางปัสสาวะเกือบทั้งหมด ดังนั้นเมื่อมีการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของปริมาณครีเอตินินในปัสสาวะ จึงทำให้สามารถประเมินประสิทธิภาพการทำงานของไตได้เป็นอย่างดี โดยปกติจะสามารถตรวจพบครีเอตินิน ในกระแสเลือดได้ประมาณ 0.6 - 1.5 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร และในปัสสาวะประมาณ 20 - 300 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (mg dL⁻¹) ดังนั้นเมื่อปริมาณของครีเอตินินในกระแสเลือดมีค่าที่สูงหรือในปัสสาวะมีค่าที่ต่ำผิดปกติจะแสดงให้เห็นถึงภาวะการทำงานของไตที่ล้มเหลวทั้งเฉียบพลันและเรื้อรัง ทางเดินปัสสาวะอุดตัน และในภาวะพร่องไทรอยด์ฮอร์โมน นอกจากนี้ครีเอตินินยังสามารถเป็นสารมาตรฐานภายใน ในการตรวจวัดสารทางชีวภาพตัวอื่นๆ ในปัสสาวะ เช่น ค่ากลูโคส หรือโปรตีนในปัสสาวะ เป็นต้น

2.3 วิธีการตรวจวัดหาปริมาณครีเอตินิน [5]

หลักการในการตรวจหาปริมาณครีเอตินินที่นิยมใช้ในปัจจุบัน ได้แก่

2.3.1 วิธี Alkaline picrate Jaffe' e reaction หรือ modified Jaff' e reaction (kinetic assay)

เป็นวิธีการตรวจหาปริมาณครีเอตินิน โดยไม่ต้องทำการตกตะกอนโปรตีนก่อน โดยสารครีเอตินินในตัวอย่างจะทำปฏิกิริยากับกรดพิคริก (picric acid) ในสารละลายที่เป็นด่างแล้วเกิดสารประกอบเชิงซ้อนสีส้มแดง ดังปฏิกิริยา



สามารถหาปริมาณครีเอตินินในตัวอย่างจากค่าอัตราการดูดกลืนแสง (absorbance) ที่เพิ่มขึ้นในช่วงเวลาที่กำหนดของสารประกอบเชิงซ้อนของ creatinine - alkaline picrate complex ที่ความยาวคลื่น 490 - 500 นาโนเมตร จำนวน 2 ครั้ง โดยครั้งแรกอ่านค่าเป็น A1 หลังเกิดปฏิกิริยาแล้วเป็นเวลา 20 วินาที ระยะเวลาดังกล่าวเป็นการวัดความเข้มข้นสีที่เกิดจากสารที่ไม่ใช่ครีเอตินิน ซึ่งจะทำปฏิกิริยาได้อย่างรวดเร็ว (fast reacting pseudo creatinine) และอ่านค่าที่สองเป็น A2 หลังจาก A1 เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นใช้ค่าความแตกต่างของการดูดกลืนแสงที่เกิดขึ้น ซึ่งอัตราการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของครีเอตินินในตัวอย่าง ซึ่งข้อจำกัดของวิธีแจฟฟี คือ การอ่านค่าการดูดกลืนแสง A2 หากอ่านช้ากว่าที่กำหนดจะมีสารรบกวนจำพวกที่ทำปฏิกิริยาช้า (slow reacting pseudo creatinine) หรือสารรบกวนอื่นๆ ที่ไม่ใช่ครีเอตินินแต่สามารถเกิดปฏิกิริยาได้ (non-specific chromogen) เช่น คีโตน กลูโคส โปรตีน albumin, IgG วิตามินซี และยาบางชนิด (cephalosporins) ทั้งสารบิลิรูบินปริมาณสูงยังให้ผลการทดสอบที่ผิดพลาดไปในทางค่าต่ำกว่าความเป็นจริงอีกด้วย แต่อย่างไรก็ตามวิธีแจฟฟีมีข้อดี คือ มีขั้นตอนการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

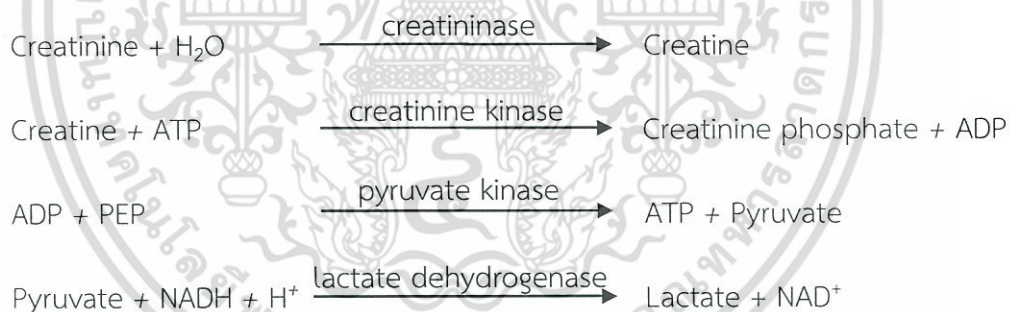
ตรวจวัดที่ไม่ซับซ้อน และสามารถประยุกต์ใช้ตรวจกับเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติได้ ทำให้เป็นที่นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการทางการแพทย์

2.3.2 วิธีเอนไซม์ (Enzymatic method)

การตรวจวัดหาปริมาณครีเอตินินในตัวอย่างด้วยการทำงานของเอนไซม์ เพื่อเปลี่ยน ครีเอตินินไปเป็นสารอื่นที่สามารถตรวจวัดเพื่อหาปริมาณของครีเอตินินได้ วิธีเอนไซม์มีจุดเด่นในเรื่องของความจำเพาะในการตรวจวัดหาปริมาณครีเอตินิน ทั้งนี้ยังมีความน่าเชื่อถือมากกว่าวิธีแจฟฟีเนื่องจากสิ่งรบกวนปฏิกิริยาน้อยกว่าวิธีแจฟฟี แต่อย่างไรก็ตามหลักการตรวจวัดโดยอาศัยเอนไซม์นี้ ผู้ทดลองต้องมีความเชี่ยวชาญ และมีประสบการณ์สูง ซึ่งอาจเป็นข้อจำกัดได้ สำหรับการหลักการตรวจวัดครีเอตินินด้วยเอนไซม์ มีดังนี้

1) หลักการตรวจวัดโดยใช้เอนไซม์ครีเอตินินเนส (Creatininase)

เป็นวิธีการตรวจหาปริมาณของครีเอตินิน โดยใช้เอนไซม์ครีเอตินินเนสในการสลายครีเอตินิน และใช้ปฏิกิริยาของเอนไซม์อื่นๆ ร่วมด้วย ได้แก่ ครีเอตินินโคเนส ไพรูเวทโคเนส และแลคเตทดีไฮโดรจีเนส โดยอาศัยการติดตามปฏิกิริยาของ NADH ที่ลดลงหรือการออกซิเดชันของ NADH ไปเป็น NAD^+ ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ 340 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโทรมิเตอร์ ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จะแปรผันตรงกับปริมาณความเข้มข้นของครีเอตินินในตัวอย่างตรวจ ดังสมการ



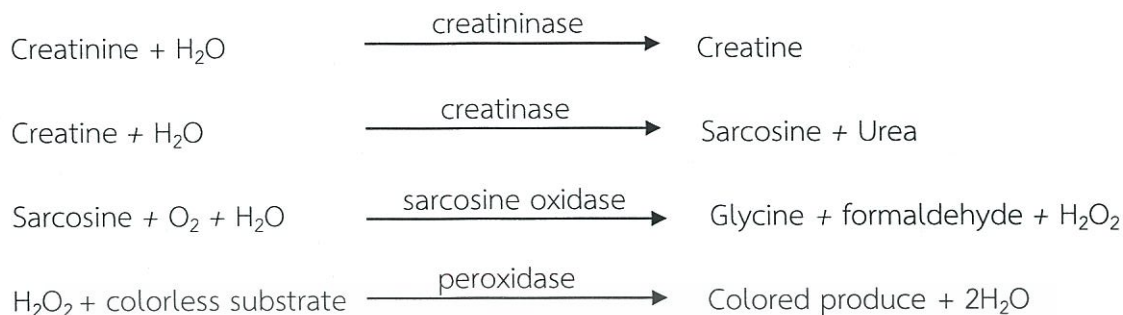
แต่เนื่องจากวิธีการตรวจวัดข้างต้นนี้ อาศัยคุณสมบัติของการออกซิเดชันของ NADH ไปเป็น NAD^+ และอาศัยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนไป ที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร จึงจำเป็นต้องมีเครื่องวัดการดูดกลืนแสงหรือสเปกโทรมิเตอร์ที่สามารถวัดได้ในช่วง UV ปัจจุบันวิธีการตรวจวัดนี้จึงไม่เป็นที่นิยม

2) หลักการตรวจวัดโดยใช้เอนไซม์ครีเอตินินเนสและครีเอตินเนส (Creatininase และ Creatinase)

เป็นวิธีการตรวจหาปริมาณของครีเอตินินโดยใช้เอนไซม์ครีเอตินินเนส และครีเอตินเนส ซึ่งอาศัยปฏิกิริยาควบคู่กับเอนไซม์ซาโคซินออกซิเดส และเปอร์ออกซิเดส ผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้ คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

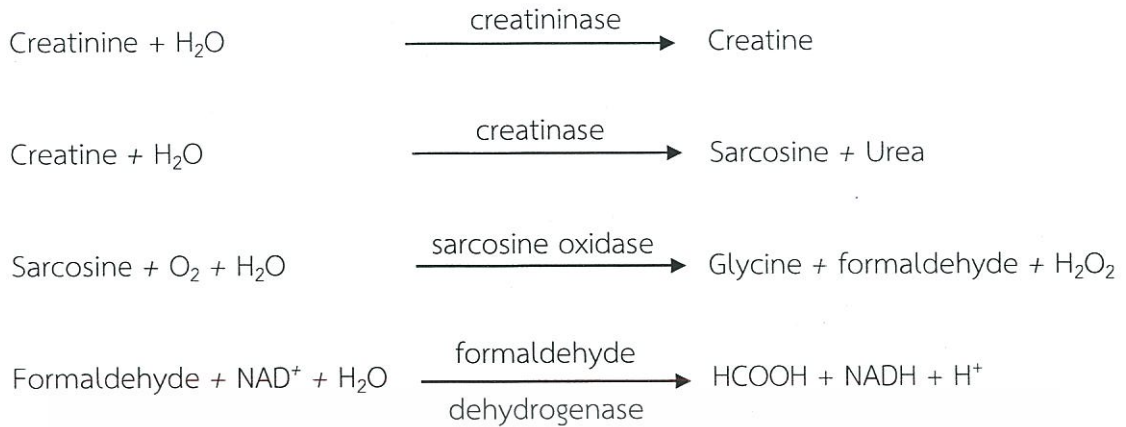
H_2O_2 ที่จะทำให้ปฏิกิริยาต่อไปกับสารตั้งต้นแล้วเกิดสีต่อไป โดยความเข้มข้นของสีที่เกิดขึ้นจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณครีอะตินินในตัวอย่าง ดังสมการ



จากสมการข้างต้น สามารถหาปริมาณครีอะตินินในตัวอย่างตรวจทางอ้อม โดยตรวจสอบสารประกอบสีเชิงซ้อน (colored product) ที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยา โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นจำเพาะกับผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นนั้นๆ ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงที่ตรวจวัดจะได้แปรผันตรงกับปริมาณความเข้มข้นของครีอะตินินในตัวอย่าง การเกิดสารผลิตภัณฑ์ที่มีสี อาศัยการทำงานของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส เพื่อเร่งปฏิกิริยาระหว่าง H_2O_2 และสารตั้งต้นให้เกิดสารประกอบสีเชิงซ้อนที่สามารถตรวจวัดได้

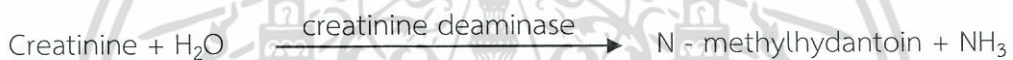
โดยหลักการข้างต้นมักถูกนำมาใช้กับการตรวจวัดครีอะตินินในลักษณะของการตรวจวัดที่ข้างเตียงผู้ป่วย (Point of care testing, POCT) โดยตรวจวัดด้วยหลักการทางเคมีไฟฟ้า ชนิดโพลารोगราฟิค (polarographic detection) อย่างไรก็ตาม การใช้เอนไซม์ครีอะตินินเนส และเอนไซม์ครีอะตินเนสในการหาปริมาณครีอะตินินนี้ พบว่าบิลิรูบินและวิตามินซี มักรบกวนปฏิกิริยาในน้ำยาตรวจจึงมีการเติมโพแทสเซียมเฮกซะไซยาโนเฟอร์เรต (potassium hexacyanoferrate (II)) หรือเอนไซม์บิลิรูบินออกซิเดส (bilirubin oxidase) เพื่อใช้ในการกำจัดวิตามินซีในสารตัวอย่างที่ทำการตรวจวัด นอกจากนี้แล้วยังมีการลดการรบกวนจากครีเอทีนที่มีอยู่แล้วในตัวอย่าง (endogenous creatine) โดยการบ่มปฏิกิริยาด้วยเอนไซม์ครีอะตินเนส (creatinase) ก่อน เพื่อทำการกำจัดครีเอทีนในตัวอย่างตรวจ

นอกจากนี้การใช้หลักการเอนไซม์ครีอะตินเนส และเอนไซม์ครีอะตินเนสนี้ ยังมีการตรวจวัดการรีดักชันของ NAD^+ ด้วยฟอร์มัลดีไฮด์ (formaldehyde) และเอนไซม์ฟอร์มัลดีไฮด์ไฮโดรจีเนส (formaldehyde dehydrogenase) อีกด้วย ดังสมการ

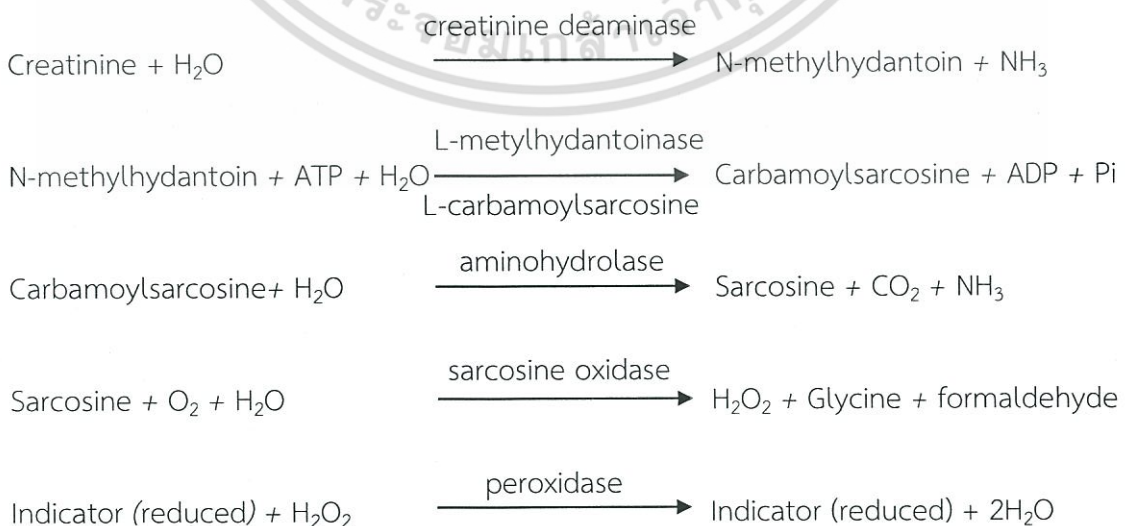


3) หลักการตรวจวัดโดยใช้เอนไซม์ครีอะตินิน ดีอะมิเนส

เป็นวิธีการตรวจที่ใช้เอนไซม์ครีอะตินิน ดีอะมิเนส (Creatinine Deaminase) ในการย่อยครีอะตินินเพื่อให้เกิดผลิตภัณฑ์เป็นแอมโมเนีย (NH_3) ดังสมการ



โดยแอมโมเนียที่เกิดขึ้นสามารถถูกวัดปริมาณได้ด้วยวิธี Berthelot reaction หรือเกิดปฏิกิริยาควบคู่กับเอนไซม์แอล - เมทิลไฮแดนโทอินเนส (L - methylhydantoinase; N - methylhydantoin amido hydrolase) เอนไซม์แอล - คาร์บาโมอิลซาโคซีน อะมิโนไฮโดรเลส (L - carbamoylsarcosine amino hydrolase) ซาโคซีนออกซิเดส และเปอร์ออกซิเดส โดยมีตัวติดตามปฏิกิริยาตัวสีที่เปลี่ยนไป เช่น การใช้ bromophenol blue เป็นต้น ปฏิกิริยาการตรวจวัดครีอะตินิน ดังแสดงในสมการต่อไปนี้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งข้อดีของการเพิ่มปฏิกิริยาโดยใช้เอนไซม์แอล - แมทิลโฮแดนโทอินเนส เป็นการหลีกเลี่ยงการตรวจวัดสารแอมโมเนียโดยตรง เนื่องจากแอมโมเนียเป็นสารที่ระเหยง่าย ทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนในการตรวจวัดได้ นอกจากนี้ยังพบว่าครีเอทีนที่มีอยู่แล้วในตัวอย่างจะไม่รบกวนปฏิกิริยาการตรวจวัด

4) หลักการตรวจแบบ Dry chemistry

เป็นการตรวจหาปริมาณครีเอทีนินด้วยหลักการของเอนไซม์ที่อาศัยปฏิกิริยา เช่นเดียวกับสมการในข้อ 3) โดยมีทั้งการตรวจวัดแอมโมเนีย และเอ็น - แมทิลโฮแดนโทอินที่เพิ่มขึ้นอย่างสัมพันธ์กับปริมาณครีเอทีนินในตัวอย่าง สำหรับการติดตามปฏิกิริยาของแอมโมเนียจะอาศัยการซึมผ่านของแอมโมเนียไปทำปฏิกิริยายังแถบตรวจวัดของครีเอทีนิน จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นที่ 600 นาโนเมตร ทั้งนี้แถบที่ตรวจจะมีแถบ blank เพื่อเปรียบเทียบปฏิกิริยา โดยบนแถบ blank จะไม่ถูกตรึงด้วยกลุ่มของเอนไซม์

2.3.3. การตรวจหาปริมาณครีเอทีนินด้วยวิธีอื่นๆ

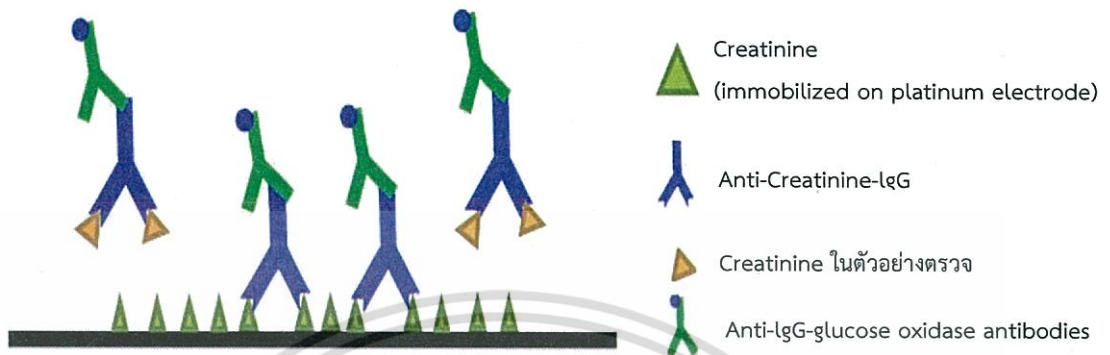
1) วิธีการตรวจวัดโดยใช้เทคนิคทางโครมาโทกราฟี (Chromatography)

วิธีการตรวจวัดโดยใช้เทคนิคทางโครมาโทกราฟี เช่น isotope - dilution mass spectrometry (IDMS) เป็นวิธีอ้างอิงมาตรฐาน (gold standard method) ในการตรวจวัดปริมาณครีเอทีนินในตัวอย่างตรวจโดยใช้ creatinine - $^{13}\text{C}_2$ เป็นสารมาตรฐานภายในชนิดที่ติดฉลากด้วยคาร์บอนไอโซโทปอะตอม (labeled internal standard) และตรวจด้วยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography และ Capillary electrophoresis แต่เทคนิคดังกล่าวก็ยังมีข้อจำกัด เช่น ใช้เวลาในการตรวจวัดนาน ทำให้ผลการทดสอบช้า เครื่องมือที่มีราคาแพง ทั้งยังต้องมีขั้นตอนในการเตรียมตัวอย่างก่อนทำการทดสอบ และต้องใช้ผู้ที่มีประสบการณ์หรือความชำนาญในการใช้เครื่องมือดังกล่าวในการตรวจวัดและแปลผลอีกด้วย ดังนั้นหลักการดังกล่าวจึงไม่เหมาะสมในการตรวจของงานประจำในห้องปฏิบัติการ

2) เทคนิคทางเคมีไฟฟ้า (Electrochemical methods)

การตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า เป็นการนำหลักการ jaff'e reaction หรือวิธี alkaline picrate chromogenic assay มาประยุกต์ใช้ เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่ายในการตรวจวัดมีราคาถูกลง และมีเสถียรภาพ (stable) เหมาะกับการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าและปัจจุบันนิยมใช้หลักการเอนไซม์สำหรับตรวจวัดครีเอทีนินด้วยหลักการเคมีไฟฟ้าเช่นกัน เนื่องจากวิธีเอนไซม์มีความจำเพาะเจาะจงสูง นอกจากนี้ยังมีการใช้หลักการทางภูมิคุ้มกันวิทยา (immunoassay) หรือการใช้แอนติบอดีแบบแย่งจับ โดยทำการตรึงครีเอทีนินไว้บนอิเล็กโทรดชนิดแพลตินัม (platinum electrode) แล้วทำการบ่มตัวอย่างตรวจร่วมกับ anti-creatinine IgG และ anti-IgG-glucose oxidase ลงไป เพื่อให้ครีเอทีนินในตัวอย่างกับที่อยู่บนเมมเบรนแย่งกันจับกับ anti-creatinine IgG เมื่อครบเวลาที่กำหนดจึงทำการล้างส่วนที่ไม่มีการจับกับครีเอทีนินบนอิเล็กโทรดออกไป จากนั้นเติมกลูโคสลงไปเพื่อให้

เกิดปฏิกิริยาทางเคมีกับเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส เกิดผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ที่สามารถตรวจวัดได้ด้วยสัญญาณทางเคมีไฟฟ้า



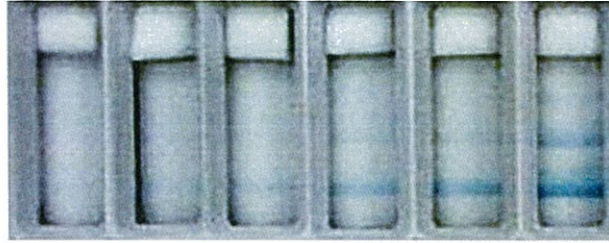
รูปที่ 2.1 แผนภาพการแย่งจับกันระหว่างครีเอตินินที่ถูกตรึงไว้บน platinum electrode และครีเอตินินในตัวอย่างตรวจ [5]

3) การตรวจวัดแบบให้ผลเร็ว (Rapid test)

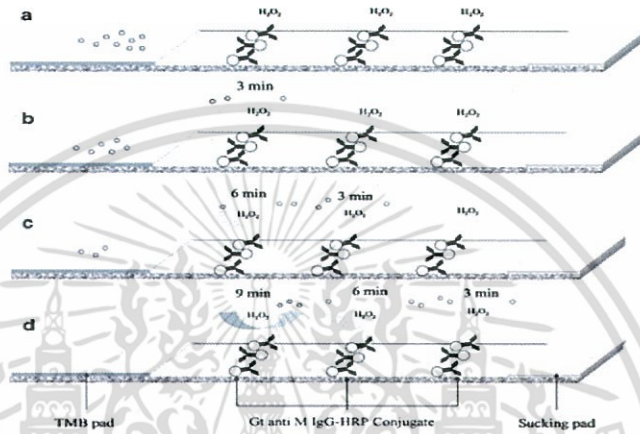
การตรวจวัดปริมาณครีเอตินินด้วยชุดการตรวจวัดที่ให้ผลการทดสอบแบบให้ผลเร็ว เป็นการพัฒนาการตรวจหาปริมาณครีเอตินินด้วยการอาศัยการทำงานของกลุ่มเอนไซม์ ได้แก่ เอนไซม์ครีเอตินิเนส เอนไซม์ครีเอตินิเนส และเอนไซม์ชาโคซีนออกซิเดส จากนั้นครีเอตินินในตัวอย่างจะถูกเปลี่ยนเป็น H_2O_2 และเติมสารละลายซีเตรทฟอสเฟสบัฟเฟอร์ (citrate phosphate buffer) โดย H_2O_2 ที่เกิดขึ้น และ tetramethyl benzidine (TMB) ที่ถูกตรึงไว้บน peroxidase substrate pad จะถูกปล่อยออกมาแล้วเคลื่อนที่ไปทำปฏิกิริยากับ Goat anti - mouse IgG - horseradish peroxidase conjugate (Gt anti M IgG - HRP) ที่ถูกตรึงเป็นแถบไว้บนไนโตรเซลลูโลสเมมเบรน (nitrocellulose membrane) แล้วเกิดเป็นสารประกอบสีน้ำเงิน ซึ่ง H_2O_2 ที่เกิดขึ้นจะแปรผันตรงกับสัดส่วนของปริมาณครีเอตินินในตัวอย่าง ดังนั้นแถบสีน้ำเงินที่เกิดขึ้นจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของครีเอตินิน โดยสามารถทำการตรวจวัดปริมาณครีเอตินินได้แบบกึ่งปริมาณในช่วง 0 - 400 ไมโครโมลาร์ (μM) ผลการทดสอบสามารถอ่านจากจำนวนแถบที่เกิดขึ้น โดยไม่ต้องอาศัยเครื่องมือในการอ่านผลอื่นๆ หากขึ้น 1 แถบ หมายถึง ครีเอตินินในตัวอย่างน้อยกว่าหรือเท่ากับ 50 ไมโครโมลาร์ ให้สี 2 แถบ หมายถึง มีปริมาณครีเอตินินในตัวอย่างระหว่าง 50 - 200 ไมโคร โมลาร์ และหากให้สี 3 แถบ หมายถึง มีปริมาณครีเอตินินในตัวอย่างระหว่าง 250 - 400 ไมโครโมลาร์ ระยะเวลาในการอ่านผลการทดสอบ คือ 19 นาที ตัวอย่างการเกิดแถบสีจากผลการทดสอบ ดังรูป 2.2 และหลักการของ strip ดังรูป 2.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Creatinine (μM) 0 12.5 25 100 200 250



รูปที่ 2.2 ผลการตรวจวัดปริมาณครีเอตินินโดยอาศัยหลักการการทำงานของเอนไซม์ [5]



รูปที่ 2.3 แผนภาพในการตรวจวัดครีเอตินินในตัวอย่างตรวจด้วยหลักการ strip [5]

2.4 นาโนเทคโนโลยีและอนุภาคทองระดับนาโน (AuNPs) [7]

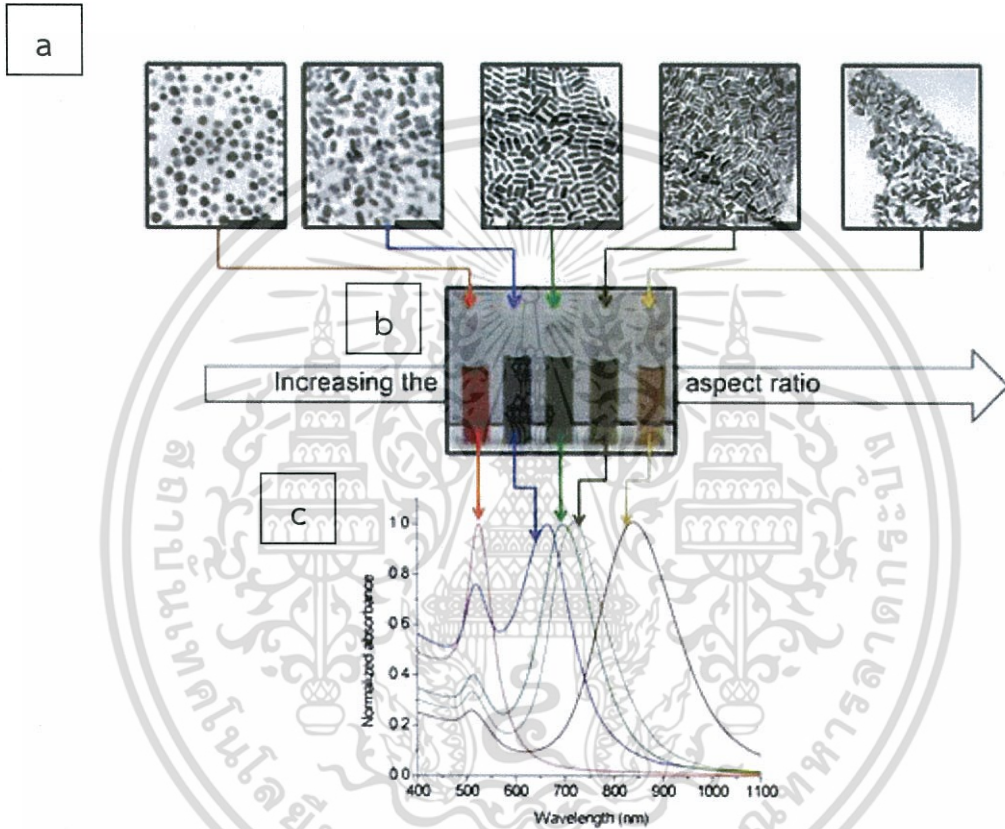
นาโนเทคโนโลยีเป็นการศึกษาเกี่ยวกับอนุภาคของอะตอมหรือโมเลกุลที่มีขนาดอยู่ในระดับนาโนเมตร (ความยาว 1 นาโนเมตร เท่ากับ 1 ในพันล้านเมตร หรือ 10^{-9} เมตร) ซึ่งเป็นการศึกษาเกี่ยวกับอนุภาคที่มีขนาดเล็กในระดับนาโนเป็นสิ่งที่มองไม่เห็นด้วยตาเปล่าหรือแม้แต่การใช้กล้องจุลทรรศน์ธรรมดา การที่จะสามารถมองเห็นขนาดเล็กระดับ 1 นาโนเมตรได้นั้นจะต้องใช้กล้องจุลทรรศน์ที่มีกำลังขยายสูงมาก เช่น กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนหรือกล้องจุลทรรศน์ชนิดใหม่ๆ ที่ถูกสร้างขึ้นมาเพื่อใช้ในการศึกษาและวิจัยทางด้านนาโนเทคโนโลยีโดยเฉพาะ สารที่มีขนาดในช่วงนาโนจะมีคุณสมบัติพิเศษต่างจากสารที่มีขนาดใหญ่ โดยส่งผลให้สมบัติทางไฟฟ้า สมบัติทางแม่เหล็ก สมบัติเชิงเคมีและสมบัติทางแสงของอนุภาคเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมและด้วยสมบัติที่เปลี่ยนไปทำให้สามารถนำมาประยุกต์ใช้ประโยชน์ในสาขาต่างๆ เช่น ด้านอาหาร ด้านสิ่งแวดล้อม ยา และเครื่องสำอาง เป็นต้น สำหรับทางด้านทางการแพทย์นั้น นาโนเทคโนโลยีสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการวินิจฉัยโรค และการถ่ายภาพได้

2.4.1 อนุภาคทองระดับนาโน (AuNPs) [8]

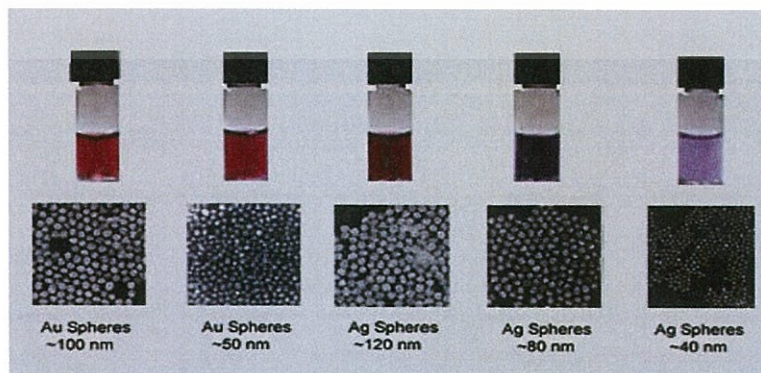
ทอง (Gold, Au) มีสีเหลือง เนื่องจากทองนั้นดูดกลืนแสงสีน้ำเงินที่อยู่ในช่วงปลายของสเปกตรัมที่มองเห็นได้ แต่ถ้าขนาดของทองเล็กลงไปเรื่อยๆจนมีขนาดอนุภาคเล็กกว่าเอกสารที่เป็นเอกสารที่ส่งผ่านเวลาหรือการเขย่าเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการคำนวณว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความยาวคลื่นที่มากกระทบมากๆ จะทำให้เกิดปรากฏการณ์ที่เรียกว่า “เซอร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์” (Surface Plasmon Rasonance, SPR) ซึ่งจะทำให้อนุภาคทองเปลี่ยนไปดูดกลืนแสงสีเขียว (ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร) จะส่งผลให้อนุภาคทองระดับนาโนมีสีแดงไวน์ (wine red) ถ้าอนุภาคทองระดับนาโนมีขนาดใหญ่ขึ้นสีของทองก็เปลี่ยนไป โดยมีสีอยู่ในช่วงสีชมพูจนถึงสีม่วง นอกจากขนาดของอนุภาคแล้ว สีก็ยังขึ้นอยู่กับรูปร่างของอนุภาคอีกด้วย

รูปร่างและสีของสารละลายอนุภาคทองนาโนขนาดต่างๆ สามารถแสดงได้ดังรูปที่ 2.4 และ 2.5



รูปที่ 2.4 (a) รูปร่างต่างๆของอนุภาคทองระดับนาโน (b) สีของสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนที่ รูปร่างต่างๆ และ (c) สเปกตรัมของอนุภาคทองระดับนาโนที่รูปร่างต่างกัน [9]

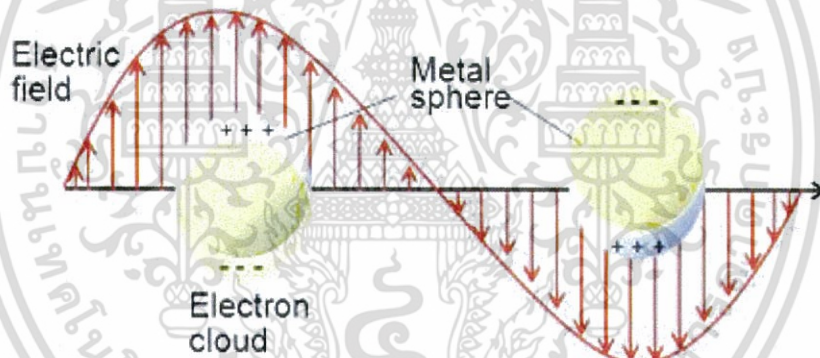


รูปที่ 2.5 สีของสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนทรงกลมที่ขนาด 40 - 100 นาโนเมตร [10]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2 การเกิดเซอร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์ (Surface Plasmon Resonance, SPR) [11]

เซอร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์ คือ การสั่นพ้องของกลุ่มหมอกอิเล็กตรอนบนพื้นผิวของอนุภาค โดยจะสั่นพ้องไปตามคลื่นแสงที่มาตกกระทบ คลื่นแสงสามารถทำให้อิเล็กตรอนสั่นพ้องได้ เนื่องจากคลื่นแสงเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าชนิดหนึ่งซึ่งเกิดจากการเคลื่อนที่ของประจุบวกและประจุลบ เมื่อเกิดการเคลื่อนที่ของประจุก็จะมีแรงดึงดูดระหว่างประจุโดยอิเล็กตรอนจะเป็นตัวที่วิ่งรอบประจุบวก โดยเคลื่อนที่ลงและขึ้นไปตามประจุบวกไปเรื่อยๆ คลื่นสามารถไปได้ทุกทิศทาง เมื่อประจุบวกวิ่งไปอิเล็กตรอนก็จะวิ่งตาม ทำให้เกิด Psi wave เกิดขึ้น โดยทิศทางของของแรงนั้นมาจากประจุบวกไปประจุลบ ถ้าอิเล็กตรอนวิ่งขึ้นทิศทางของแรงก็จะวิ่งขึ้นไปหาอิเล็กตรอน เมื่อนำมาเขียนเป็นระยะกระจัดจะเห็นว่าเส้นแรงจะค่อยๆ ขึ้นและลง ดังนั้นปลายของลูกศรจะมีคุณสมบัติเป็นลบ เพราะอิเล็กตรอนนั้นอยู่ด้านบน เมื่อปลายของลูกศรมีคุณสมบัติเป็นลบ จะทำให้เกิดการเคลื่อนที่หนียอดคลื่น (ถ้ายอดคลื่นขึ้นอิเล็กตรอนจะวิ่งลง แต่ถ้ายอดคลื่นลงอิเล็กตรอนจะวิ่งขึ้น) การวิ่งขึ้นและลงนี้เรียกว่า การสั่นพ้อง โดยจะสั่นพ้องไปกับความยาวคลื่นที่มาตกกระทบ



รูปที่ 2.6 การเกิดเซอร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์ ของอนุภาคทองทรงกลม [12]

เซอร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์ จะเกิดขึ้นก็ต่อเมื่อขนาดของอนุภาคเล็กกว่าความยาวคลื่น ในอัตราส่วนรัศมีต่อความยาวคลื่นน้อยกว่า 0.1 ก็จะทำให้เกิดการสั่นพ้องของอิเล็กตรอนกับความยาวคลื่นได้

$$\frac{R}{\lambda} < 0.1$$

โดยที่ R คือ รัศมีของอนุภาคระดับนาโน

Lambda คือ ความยาวคลื่นแสง

ถ้า $R > \lambda$ จะไม่เกิดเซอร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์ เพราะความยาวคลื่นไม่สามารถ

ไปเหนี่ยวนำให้เกิดการสั่นพ้องของอิเล็กตรอนได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 ทองคำเปลว [13]

ทองคำเปลว (Gold foil) คือแผ่นทองคำที่ผ่านการตีแผ่ขยายจนได้เป็นแผ่นที่มีความบางมาก ซึ่งในประเทศไทยนิยมใช้ทองคำเปลวในกิจกรรมต่างๆ ของศาสนาพุทธ

2.5.1 กรรมวิธีการผลิต

ทองคำที่ใช้ในการผลิตทองคำเปลวต้องมีความบริสุทธิ์ไม่ต่ำกว่าร้อยละ 96.5 - 99.99 โดยน้ำหนัก ตามมาตรฐานของทองคำแท่งในประเทศ จากนั้นนำทองคำไปรีดให้เป็นแผ่น โดยจะรีดให้มีความกว้างและความยาวแล้วแต่น้ำหนักของทองคำที่ใช้ และให้มีความหนาประมาณ 4 - 5 ไมครอน ทองคำที่รีดเสร็จแล้วจะถูกเรียกว่า ทองใบ นำทองใบมาทำความสะอาดโดยการเช็ดคราบน้ำมัน จากนั้นนำมาตัดให้เป็นเส้นยาวประมาณ 1 ฟุต แล้วตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาดเล็กที่มีความกว้างและความยาวประมาณ 1 เซนติเมตร เรียกว่า ตัวกูป นำตัวกูปมาตบแป่งสอ โดยการนำหมอนที่จุ่มแป่งสอมาเคาะใส่ตัวกูปเล็กน้อย ซึ่งแป่งสอจะเป็นตัวช่วยให้ทองคำไม่ติดกับกระดาษ จากนั้นนำตัวกูปมาใส่กระดาษกูป ซึ่งเป็นกระดาษแก้วชุ่นทรงสี่เหลี่ยมที่ผ่านการฉาบแป่งสอแล้ว โดยวางให้ทองคำอยู่ตรงกลาง กระดาษ 1 ใบ จะใส่ทอง 1 ชิ้น แล้วนำมาเรียงซ้อนกัน เพื่อที่เวลาตีจะทำให้ทองคำออกมามีลักษณะเดียวกัน จากนั้นใส่บล็อกกูปซึ่งทำจากหนังทั้ง 2 ข้าง แล้วนำไปตี เรียกว่าการตีกูป การตีกูปจะใช้เวลาตี 2 - 3 ชั่วโมงต่อกูป 1 ขอน (1 ขอน มีตัวกูปประมาณ 1000 แผ่น) โดยใช้ค้อนทองสี่เหลี่ยมตีกูปบนแท่นหินพื้นเรียบ เมื่อทองคำได้รับแรงกระแทกจากการเสียดสีจนเกิดความร้อนจะทำให้ทองคำเริ่มแผ่ขยายตัว ในขณะที่ควรระวังไม่ให้บล็อกกูปหลวม เพราะจะทำให้ทองภายในแตกได้ หลังจากตีกูปแผ่นทองคำจะถูกนำไปเทใส่กระดาษแก้วชุ่นทรงสี่เหลี่ยมแผ่นใหญ่ชิ้นที่เรียกว่า ผัก เพื่อตีให้ทองคำเกิดการแพร่ขยายตัวใหญ่ขึ้น โดยเรียกขั้นตอนนี้ว่าการเททองลงผัก หรือใส่ผัก การใส่ผักต้องให้ทองคำอยู่ตรงกลางกระดาษ 1 ใบ จะใส่ทอง 1 ชิ้น นำมาเรียงซ้อนกันเพื่อนำไปหุ้มบล็อกหนังทั้ง 2 ข้าง แล้วจึงนำไปตีต่ออีกครั้ง การตีผักเป็นขั้นตอนที่สำคัญที่สุดในการทำทองคำเปลว ตำแหน่งของค้อนและน้ำหนักในการตีจะต้องสม่ำเสมอ ใช้เวลาในการตีทองในขั้นตอนนี้ 6 - 7 ชั่วโมง โดยจะต้องทำให้ได้แผ่นทองคำที่มีความบางที่สุดจนเป็นแผ่นทองคำเปลวจึงจะเสร็จสิ้นกระบวนการตีทอง หลังจากนั้นคือการนำแผ่นทองคำเปลวที่ผ่านการตีจนมีความบางมากๆ ออกจากกระดาษตีมาใส่กระดาษตาม หรือกระดาษสาเรียกว่าการเททอง แล้วนำไปตัดทองซึ่งการตัดทองนิยมใช้ไม้ไผ่หลาวเจียรขอบคมในการตัด เพราะไม้ไผ่จะมีความคมที่พอดีในการใช้เพื่อตัดทอง ผู้ชำนาญจะตัดทองคำลงในกระดาษแผ่นรองให้ได้ขนาดตามต้องการแล้วประทับตราร้านนำมามัดรวมกันเรียกว่า มัดทองพร้อมจำหน่าย

การตัดแผ่นทอง แบ่งได้เป็น 2 แบบ ดังนี้

1. ทองเต็ม คือ แผ่นทองคำเปลวที่ถูกตัดใส่เต็มแผ่นกระดาษ
2. ทองจิ้ม คือ แผ่นทองคำเปลวขนาดเล็กที่ถูกตัดใส่ไม่เต็มแผ่นกระดาษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.2 ประเภทของทองคำเปลว

แผ่นทองคำเปลว แบ่งออกเป็น 2 แบบ ดังนี้

1. ทองคัต คือ แผ่นทองคำเปลวที่ถูกตัดออกมาตามขนาดที่กำหนด โดยผิวของแผ่นทองจะต้องเรียบเนียนเป็นแผ่นเดียวกัน ไม่มีรอยต่อของแผ่นทอง และมีราคาแพง

2. ทองต่อ คือ แผ่นทองคำเปลวที่มีการตัดต่อแผ่นทองให้ได้ตามขนาดที่กำหนด โดยการนำแผ่นทองคำเปลวมาต่อกันมากกว่า 1 แผ่นขึ้นไป และมีราคาถูก

แบ่งประเภทของทองตามความบริสุทธิ์ได้เป็น 3 ประเภท ดังนี้

1. ทองแดง หรือ ทองกิมชัว เป็นทองคำเปลวที่ทำมาจากทองคำที่มีความบริสุทธิ์ร้อยละ 99.99 โดยน้ำหนัก เมื่อนำมาตีออกจะทำให้ได้แผ่นทองคำเปลวที่มีสีเหลืองทองอร่ามออกแดง

2. ทองเขียว เป็นทองคำเปลวที่ทำมาจากทองคำที่มีความบริสุทธิ์ร้อยละ 97 โดยน้ำหนัก เมื่อนำมาตีออกจะทำให้ได้แผ่นทองคำเปลวที่มีสีเหลืองทองอร่ามออกเขียว มีราคาถูกกว่าทองแดง หรือทองกิมชัว

3. ทองวิทยาศาสตร์ เป็นทองคำเปลวที่ทำมาจากสารประกอบโลหะอื่นๆ ที่ไม่ใช่ทอง และสีเคลือบปะอยู่บนแผ่นพอลิเมอร์ โดยจะสังเกตได้ง่าย เมื่อใช้นิ้วขยี้หากไม่ติดนิ้วมือแสดงว่าเป็นทองวิทยาศาสตร์

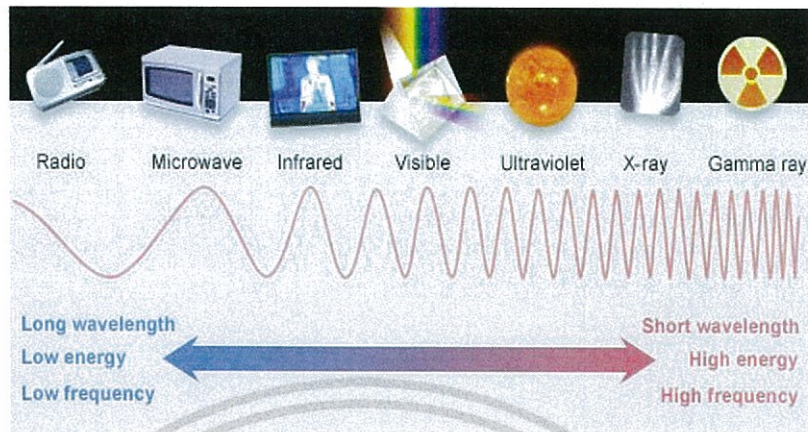
2.6 เครื่องยูวี - วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV-Vis spectrophotometer) [14]

UV - Vis spectrophotometer เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณแสงในช่วงรังสียูวี และช่วงแสงขาวที่ทะลุผ่านหรือถูกดูดกลืนโดยตัวอย่างที่วางอยู่ในเครื่องมือ ความยาวคลื่นแสงจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณและชนิดของสารที่มีอยู่ในตัวอย่าง ซึ่งโดยส่วนใหญ่จะเป็นสารอินทรีย์ สารประกอบเชิงซ้อน และสารอินทรีย์ที่สามารถดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นเหล่านี้ได้ เครื่อง UV - Vis Spectrophotometer ในปัจจุบันได้รับการพัฒนาให้มีขนาดที่เล็กลง มีความไวมากขึ้น ให้ผลลัพธ์ที่ถูกต้องแม่นยำมากยิ่งขึ้น รวมไปถึงการพัฒนาโปรแกรมที่ใช้ควบคู่กันกับเครื่องมือในการวิเคราะห์และการพ่วงต่อด้วยเทคนิคอื่นๆ ทำให้สามารถนำไปใช้งานได้กว้างขึ้น

UV-Vis Spectrum คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้ามีแถบสเปกตรัมตั้งแต่ช่วงความยาวคลื่นสั้น (รวมทั้งรังสีแกมมาและรังสีเอ็กซ์) ไปจนถึงช่วงความยาวคลื่นยาว (รวมถึงไมโครเวฟ และคลื่นวิทยุ) รังสียูวี และ แสงขาวเป็นเพียงส่วนเล็กๆ ส่วนหนึ่งของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า โดยมีความยาวคลื่นประมาณ 190 - 800 นาโนเมตร

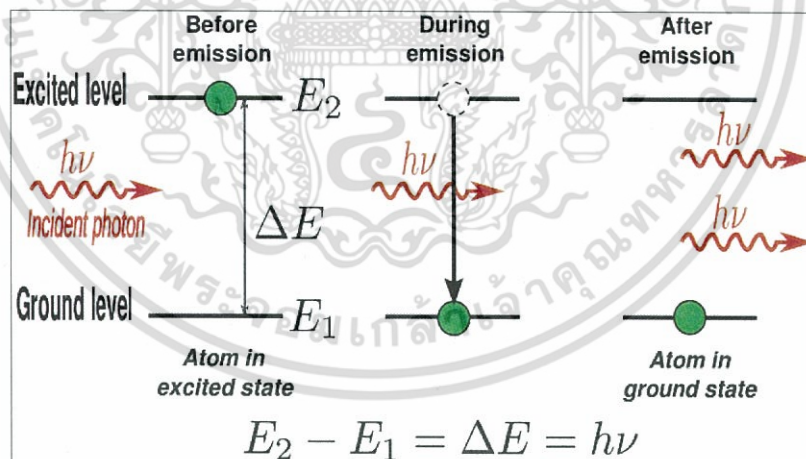
UV-Vis Spectroscopy ในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมา เทคนิค UV - Vis spectroscopy ได้ถูกนำไปใช้งาน ต่างๆ อย่างมากมาย แม้ว่าทุกวันนี้เครื่องมือที่นำเทคนิคนี้ไปใช้จะมีความแตกต่างจากเครื่องมือตัวแรกเป็นอย่างมาก แต่เครื่องมือเหล่านี้ก็ทำงานบนหลักการพื้นฐานเดียวกัน คือ คุณสมบัติในการดูดกลืนแสงของสาร เมื่อโมเลกุลของตัวอย่างถูกฉายด้วยแสงในช่วงรังสียูวี หรือแสงขาวที่มีเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พลังงานเหมาะสมจะทำให้อิเล็กตรอนภายในอะตอมเกิดการดูดกลืนแสงแล้วเปลี่ยนสถานะไปอยู่ใน
 ชั้นที่มีระดับพลังงานสูงกว่า



รูปที่ 2.7 แถบสเปกตรัมของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า [15]

เมื่อทำการวัดปริมาณของแสงที่ผ่านหรือสะท้อนมาจากตัวอย่างเทียบกับแสงจากแหล่งกำเนิด
 ที่ความยาวคลื่นค่าต่างๆ ตามกฎของ Beer - Lambert ค่าการดูดกลืนแสงหรือค่า absorbance ของ
 สารจะแปรผันกับจำนวนโมเลกุลที่มีการดูดกลืนแสง ดังนั้นจึงสามารถระบุชนิดและปริมาณของสารที่
 มีอยู่ในตัวอย่างได้



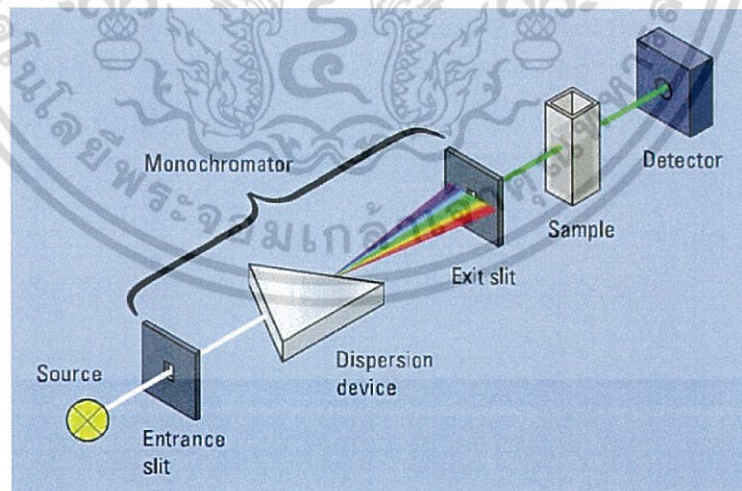
รูปที่ 2.8 แผนภาพการเปลี่ยนระดับชั้นพลังงานของอิเล็กตรอนภายในโมเลกุล [16]

เครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ทำหน้าที่ในการตรวจวัดความเข้มแสงที่ผ่าน หรือ
 สะท้อนจากตัวอย่างเปรียบเทียบกับความเข้มแสงจากแหล่งกำเนิด เครื่อง UV-Vis spectro
 photometer โดยทั่วไปแล้วจะมีส่วนประกอบหลักๆ ที่เหมือนกัน ได้แก่ แหล่งกำเนิดแสง เกรตติ้ง
 หรือโมโนโครเมเตอร์ เซลล์ที่บรรจุสารตัวอย่าง และเครื่องตรวจวัด แหล่งกำเนิดแสงจะต้องให้แสงที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คงที่อย่างต่อเนื่อง ตัวที่นิยมใช้ คือ หลอดทั้งสแตนฮาโลเจน ซึ่งให้แสงที่มีความยาวคลื่นในช่วง 320 - 2500 นาโนเมตร สำหรับแหล่งกำเนิดแสงในช่วงรังสียูวีนั้นจะใช้หลอดไฮโดรเจน หรือหลอดดิวทีเรียม ซึ่งให้แสงในช่วงความยาวคลื่น 160 - 375 นาโนเมตร แต่แสงที่ได้จากแหล่งกำเนิดนั้นจะมีความยาวคลื่นต่างๆ ดังนั้นจึงต้องใช้โมโนโครเมเตอร์เป็นตัวกระจายแสงออกเพื่อให้แสงที่จะผ่านไปยังตัวอย่างมีความยาวคลื่นค่าเดียวตามที่ต้องการ หลังจากนั้นแสงความยาวคลื่นค่าเดียวจะผ่านไปยังเซลล์ที่บรรจุสารตัวอย่าง และสารเปรียบเทียบ (cuvettes) ซึ่งมีรูปร่างต่างๆ กันออกไป แต่โดยส่วนใหญ่จะมีลักษณะเป็นกล่องทรงสี่เหลี่ยมผืนผ้าที่มีความกว้างภายใน 1 เซนติเมตร (ซึ่งค่านี้จะเป็นค่าระยะทางเดินของแสงที่ผ่านเข้าไปในตัวอย่างตามกฎของ Beer - Lambert) เครื่อง UV - Vis spectrophotometer บางรุ่นสามารถใช้หลอดทดลองเป็น cuvettes ได้ แต่ cuvettes ที่ดีที่สุดนั้นทำมาจากควอทซ์ที่มีคุณภาพสูง สำหรับ cuvettes ที่ทำจากแก้วหรือพลาสติกนั้นก็เป็นที่นิยมใช้กันทั่วไป แต่สามารถใช้ได้เฉพาะในช่วงแสงขาวเท่านั้น เพราะแก้วและพลาสติกดูดกลืนแสงในช่วงรังสียูวี แสงในส่วนที่ไม่ถูกดูดกลืนจะเดินทางผ่านตัวอย่างมาถึงเครื่องตรวจวัด สำหรับเครื่องตรวจวัดที่นิยมใช้ ได้แก่ PMT (Photomultiplier tube), Diode arrays และ CCDs (charge coupled devices) เครื่องจะทำการบันทึกค่าความยาวคลื่นร่วมกับค่ามุมของแต่ละความยาวคลื่นที่เกิดการดูดกลืน ผลของสเปกตรัมที่ได้ จะแสดงในรูปของกราฟระหว่างค่า absorbance และค่าความยาวคลื่น

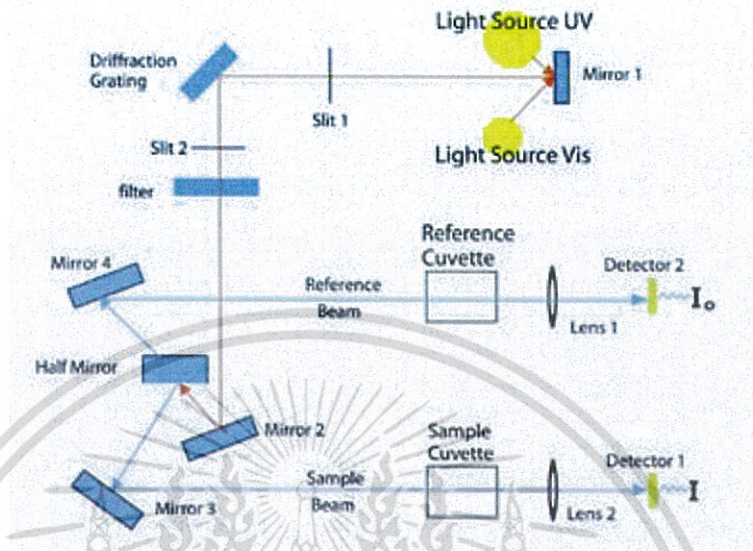
เครื่อง UV - Vis spectrophotometer สามารถแบ่งได้เป็น 2 ระบบ คือ แบบลำแสงเดี่ยว และแบบลำแสงคู่ สำหรับเครื่องแบบลำแสงเดี่ยว เป็นเครื่องที่ใช้ลำแสงเดี่ยวจากแหล่งกำเนิดผ่านไปยังตัวอย่าง เครื่องมือนี้ได้รับการออกแบบให้สามารถใช้งานได้ง่ายสะดวก และมีราคาไม่แพงมากนัก



รูปที่ 2.9 แผนภาพส่วนประกอบของเครื่อง UV - Vis spectrophotometer แบบลำแสงเดี่ยว [17]

สำหรับเครื่องแบบลำแสงคู่ นั้น แสงจะถูกแยกออกเป็น 2 ลำ ก่อนที่จะไปตกลงบนตัวอย่าง โดยแสงลำหนึ่งจะใช้เป็นลำแสงอ้างอิง ขณะที่อีกลำจะผ่านไปยังตัวอย่าง เครื่องมือที่เป็นแบบลำแสงคู่ บางรุ่นจะมีเครื่องตรวจวัด 2 ตัว เพื่อที่จะตรวจวัดแสงอ้างอิงและแสงที่มาจากตัวอย่างได้พร้อมกัน แต่เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

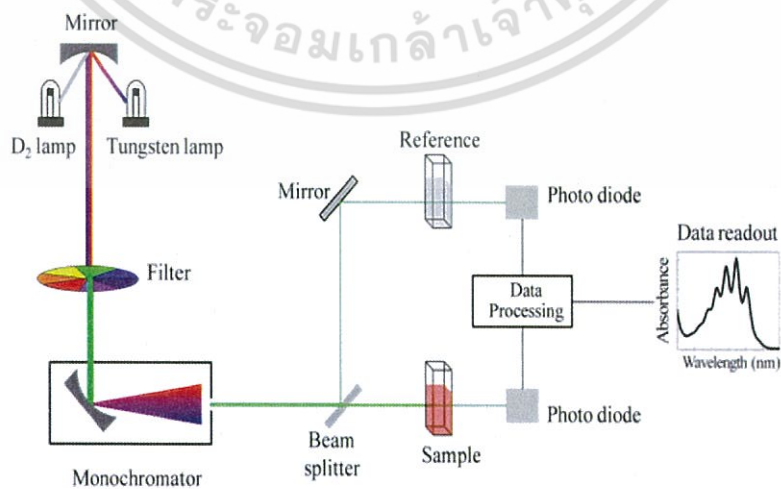
ในบางรุ่นจะมีเครื่องตรวจวัดเพียงตัวเดียว โดยแสงทั้งสองลำจะผ่านตัว beam chopper ซึ่งจะทำให้หน้าที่ยกแสงลำหนึ่งไว้ในช่วงระยะเวลาหนึ่ง เครื่องตรวจวัดจึงสามารถตรวจวัดความแตกต่างของแสงทั้งสองลำได้



รูปที่ 2.10 แผนภาพส่วนประกอบของเครื่อง UV-Vis spectrophotometer แบบลำแสงคู่ [18]

2.6.1 ส่วนประกอบของเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ [19]

ส่วนประกอบของอุปกรณ์ทั้งหมด ที่ประกอบเป็นเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ สามารถแสดงได้ดังรูปที่ 2.11 ซึ่งหน้าที่ของแต่ละอุปกรณ์ สรุปได้ดังต่อไปนี้



รูปที่ 2.11 แผนภาพเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ [20]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1) แหล่งกำเนิดแสง (light source)

แหล่งกำเนิดแสงในเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์จะต้องให้รังสีในช่วงความยาวคลื่นที่ต้องการอย่างต่อเนื่องและคงที่ตลอดเวลา รวมทั้งมีความเข้มแสงที่มากพอด้วย สำหรับความยาวคลื่นในช่วงอัลตราไวโอเล็ตจะใช้หลอดดิวเทอเรียม (deuterium lamp) เป็นแหล่งกำเนิดแสงซึ่งให้แสงในช่วง 185 - 375 nm หลักการคือทำให้อะตอมดิวเทอเรียมที่อยู่ในสภาวะเร้าคายพลังงานออกมา ส่วนหลอดทังสแตน (tungsten filament lamp) จะให้ความยาวคลื่นครอบคลุมช่วงแสงที่มองเห็นได้คือตั้งแต่ 320 - 2500 nm หลักการจะคล้ายกับหลอดไฟทังสแตนธรรมดา คือ ให้กระแสไฟฟ้าผ่านเข้าไปจนกระทั่งหลอดทังสแตนร้อนและเปล่งรังสีออกมาโดยปกติจะเปิดเครื่องทิ้งไว้ก่อนใช้งานประมาณ 30 นาที เพื่อให้แน่ใจว่าหลอดดิวเทอเรียมหรือหลอดทังสแตนให้แสงที่มีความเข้มสม่ำเสมอ



(a)



(b)

รูปที่ 2.12 (a) หลอดดิวเทอเรียม และ (b) หลอดทังสแตน [21]

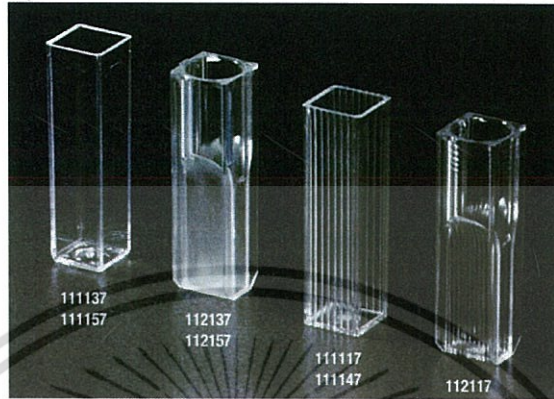
2) ส่วนเลือกความยาวคลื่น (wavelength selector)

เป็นส่วนที่ใช้แยกความยาวคลื่นที่ออกมา จากแหล่งกำเนิดแสงซึ่งเป็นแสงที่มีหลายๆ ความยาวคลื่น (polychromatic wavelength) ให้เป็นแถบแสงในช่วงแคบๆ หรือเป็นความยาวคลื่นเดียว (monochromatic wavelength) เครื่องมือสมัยก่อนจะใช้ปริซึมหรือฟิลเตอร์สำหรับแยกความยาวคลื่น แต่ปัจจุบัน เปลี่ยนมาใช้โมโนโครเมเตอร์ (monochromator) แบบเกรตติง (grating) สะท้อนแสงซึ่งมีลักษณะเป็นร่องเล็กๆ ขนานกันจำนวนมาก แสงจากแหล่งกำเนิดแสงจะตกกระทบบลงบนผิวหน้าของร่องแล้วสะท้อนออกมาที่มุมต่างๆ เฉพาะความยาวคลื่นที่เราเลือกเท่านั้นจึงจะผ่านช่องแสงออก (exit slit) ไปสู่สารตัวอย่าง

3) ภาชนะใส่สารตัวอย่าง (cell หรือ cuvette)

ภาชนะใส่สารตัวอย่างสำหรับสเปกโทรโฟโตมิเตอร์จะเรียกว่า เซลล์หรือคิวเวทท์ (cuvette) มีหลายแบบหลายขนาดด้วยกันขึ้นกับการใช้งาน หลักสำคัญในการเลือกใช้ก็คือ การวัดในช่วงแสงอัลตราไวโอเล็ต จะต้องใช้เซลล์ที่ทำจากควอตซ์ (quartz) เท่านั้น เนื่องจากแก้วหรือเอกซาร์นี้เป็นเอกซาร์ที่ส่งผ่านได้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พลาสติก สามารถดูดกลืนแสงในช่วงอัลตราไวโอเล็ตได้ ส่วนเซลล์ที่ทำจากแก้วจะใช้วัดในช่วงแสงที่มองเห็นได้ นั้นหมายความว่าถ้าเราต้องการวัดสารในช่วงแสงที่มองเห็นได้ก็ควรจะใช้เซลล์ที่ทำจากแก้ว การใช้เซลล์ควอตซ์ไม่ได้มีผลให้การวัดแสงดีขึ้น แต่จะสิ้นเปลืองเปล่าประโยชน์เพราะควอตซ์ราคาแพงกว่าแก้วมาก



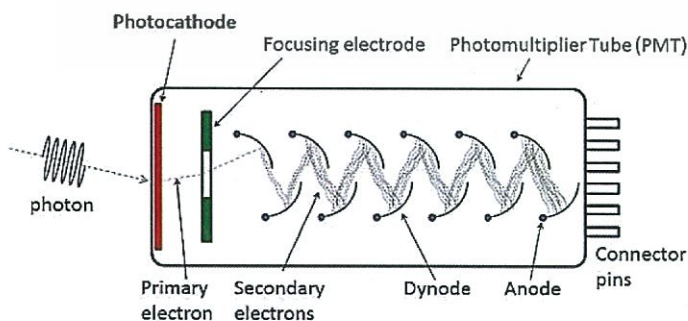
รูปที่ 2.13 ภาพตัวอย่าง cuvettes แบบต่างๆ [22]

4) ตัวตรวจจับสัญญาณ (detector)

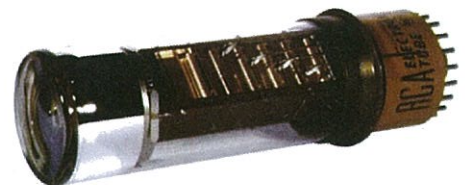
เครื่องตรวจจับสัญญาณที่ดีต้องมีสภาพไวสูง คือแม้ปริมาณแสงจะเปลี่ยนไปเล็กน้อยก็สามารถตรวจจับสัญญาณความแตกต่างได้ ปัจจุบันเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ส่วนใหญ่นิยมใช้ตัวตรวจจับสัญญาณ 2 ชนิด คือ

4.1) หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ (photomultiplier tube; PMT)

หลอด PMT ประกอบไปด้วยแคโทด (cathode) ที่ฉาบผิวด้วยสารที่สามารถให้อิเล็กตรอนได้เมื่อถูกแสงจำนวน 9 ชุด เรียกว่า ไดโนด (dynode) แต่ละไดโนดจะมีศักย์ไฟฟ้าสูงขึ้นเรื่อยๆ เมื่อแสงตกกระทบกับไดโนดตัวที่หนึ่งสารที่ฉาบผิวจะเกิดอิเล็กตรอนขึ้น แล้ววิ่งไปกระทบไดโนดที่ สอง สาม สี่ จนครบทั้งเก้าตัว ดังนั้นปริมาณอิเล็กตรอนจะเพิ่มขึ้นถึง $10^6 - 10^7$ เท่า แล้วจึงชนแอโนดให้กระแสไฟฟ้าออกมาเข้าเครื่องขยายสัญญาณต่อไป



(a)



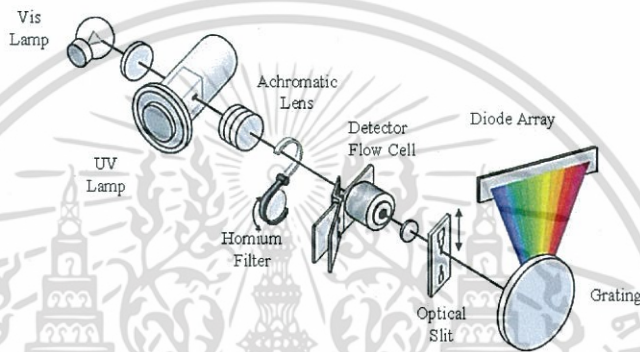
(b)

รูปที่ 2.14 (a) ภาพตัดขวางของหลอด PMT และ (b) ลักษณะหลอด PMT [23]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2) โฟโตไดโอดอาร์เรย์ (photodiode arrays; PDA)

ตัวตรวจจับสัญญาณชนิดนี้สามารถจับสัญญาณได้ครอบคลุมทั้งสเปกตรัมโดยใช้ไดโอดนี้มาเรียงต่อกันเป็นแถว ซึ่งสามารถวัดครอบคลุมสเปกตรัมได้ตั้งแต่ 200 - 1100 nm ตัวตรวจจับสัญญาณนี้ประกอบไปด้วยโฟโตไดโอดและตัวเก็บประจุ (capacitor) ประมาณ 200 - 4000 ตัวเรียงต่อกันเป็นแถว หลักการเริ่มต้นด้วยการให้ประจุผ่านผิวหน้าไดโอด ซึ่งไดโอดก็จะเก็บประจุไว้ที่ตัวเก็บประจุ เมื่อแสงตกลงบนไดโอดจะทำให้เกิดประจุไฟฟ้าไปทำลายประจุที่เก็บไว้ที่ตัวเก็บประจุ ทำให้ต้องใส่ประจุเพิ่มเข้าไปใหม่ซึ่งเป็นช่วงของการสแกนแต่ละครั้งนั่นเอง ปริมาณของประจุที่ต้องใส่เข้าไปใหม่ จะเป็นปฏิภาคโดยตรงกับความเข้มแสงที่วัดได้ของแต่ละไดโอด ดังนั้นจากการวัดปริมาณแสงที่แตกต่างกันตลอดช่วงความยาวคลื่นจะได้เป็นสเปกตรัมการดูดกลืนของสารนั้นออกมา



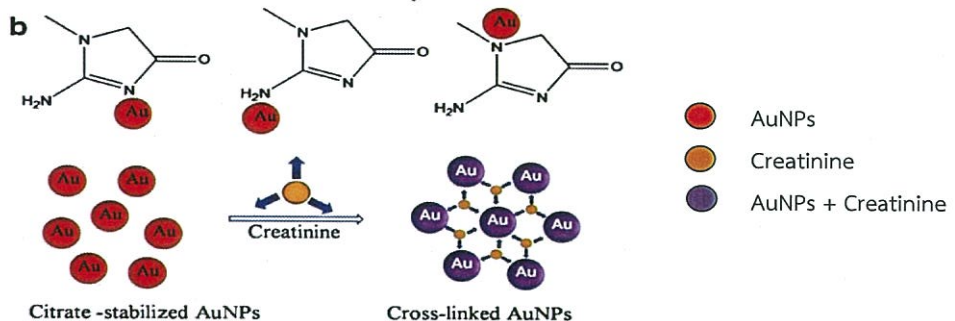
รูปที่ 2.15 แผนภาพสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่มีไดโอดอาร์เรย์เป็นตัวตรวจจับสัญญาณ [24]

5) ส่วนบันทึกและแปรผลสัญญาณ (recorder and processor)

ทำหน้าที่ขยายสัญญาณ และแปรผลสัญญาณให้ออกมาในมาตราส่วนแบบล็อก (log scale)

2.7 หลักการตรวจวัดที่ใช้

อันตรกิริยาระหว่างอนุภาคทองระดับนาโนกับครีเอตินินเป็นไปตามทฤษฎี Hard-Soft Acid-Base (HSAB) โดยที่หมู่เอมีน (-NH) ของครีเอตินินจะเกิดอันตรกิริยากับพื้นผิวของอนุภาคทองระดับนาโน และเหนี่ยวนำให้เกิดการรวมตัวของครีเอตินินแต่ละโมเลกุลโดยกลไกในการเกิดปฏิกิริยาของอนุภาคทองระดับนาโนกับครีเอตินินแสดงได้ดังรูปที่ 2.16



รูปที่ 2.16 แผนภาพการเกิดปฏิกิริยาของอนุภาคทองนาโนกับครีเอตินิน [6]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการศึกษาเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้เชิงพาณิชย์ การค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Kwanrutai Talalak และคณะ [5] ได้ทำการพัฒนาอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์ครีอะตินินบนกระดาษด้วยหลักการเอนไซม์ โดยใช้รีเอเจนต์ที่เหลือจากเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติมาสร้างอุปกรณ์กระดาษที่เรียกว่า enzymatic paper-based (enz-PAD) บนกระดาษ Whatman No.3 ที่มีขนาด 4 x 40 มิลลิเมตร ทำการตรวจวัดครีอะตินินโดยการจุ่ม enz-PAD ลงในหลุมตัวอย่างตรวจ และเมื่อครีอะตินินในตัวอย่างตรวจทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์ที่ถูกดูดซับไว้บนกระดาษ จะเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีสะสมอยู่ที่บริเวณตรวจวัด โดยเกิดจากปฏิกิริยาของเอนไซม์ครีอะติเนสและเอนไซม์ซาคโคซินออกซิเดสที่เปลี่ยนครีอะตินินในตัวอย่างเป็น H_2O_2 ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับ 4 - aminophenazone และ 2, 4, 6-triiodo-3-hydroxybenzoic acid โดยมีเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีชมพูของ quinoneimine บนพื้นที่สำหรับตรวจวัด โดยการตรวจวัดปริมาณครีเอทีนินด้วย enz-PAD ที่พัฒนาขึ้น มีช่วงความเป็นเส้นตรง 2.5-25 mgdL⁻¹ ($r^2 = 0.983$) และความสามารถในการตรวจวัดต่ำสุดเท่ากับ 1.9 mg dL⁻¹ ซึ่งอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษที่พัฒนาขึ้นถือเป็นวิธีทางเลือกใหม่สำหรับการตรวจกรองปริมาณครีอะตินินในปัสสาวะ เนื่องจากใช้งานง่าย ราคาถูก

Xin Wang และคณะ [25] ทำการทดสอบการตรวจวัดตะกั่วโดยใช้ควอนตัมดอท(CA-CdTe-QDs) ซึ่งมีพื้นผิวเป็นประจุบวก และอนุภาคทองคำนาโน (MUA - AuNPs) ที่มีพื้นผิวเป็นประจุลบ มาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาตะกั่วด้วยหลักการ fluorescence resonance energy transfer (FRET) โดยทำการปรับปรุงผิวหน้าอนุภาคทองคำนาโนด้วย 11 - mercaptoundecanoic acid โดยปกติแล้ว CdTe-QDs จะมีคุณสมบัติในการเรืองแสง แต่ค่าการดูดกลืนแสงจะต่ำลง (เรืองแสงน้อยลง) เมื่อจับกับ AuNPs เนื่องจาก AuNPs ไปดูดกลืนแสงของ CdTe-QDs ไว้ แต่เมื่อทำการทดสอบโดยการเติมตะกั่วลงไป จะพบว่าค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากประจุบวกของตะกั่วจะไปเหนี่ยวนำประจุลบของ AuNPs ทำให้เกิดการรวมตัว และทำให้ CdTe-QDs เรืองแสงได้ดังเดิม ดังนั้นค่าการดูดกลืนแสงจึงเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของตะกั่วในช่วง 0.22 - 4.51 ppm และขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดตะกั่วคือ 30 ppb

Jarinya Sittiwong และคณะ [26] ได้ทำการพัฒนาวิธีการหาปริมาณครีอะตินินในปัสสาวะด้วยวิธี colorimetric method โดยใช้อนุภาคทองระดับนาโนเป็นรีเอเจนต์ ทำการสกัด ครีอะตินินออกจากปัสสาวะด้วยหมู่ sulfonic acid functionalized silica gel ในการการทดลองใช้ครีอะตินิน 70 ไมโครลิตร เติมลงในสารละลายอนุภาคทองระดับนาโน 1 มิลลิตร เข้มข้น 0.25 มิลลิโมลาร์ เวลาที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาที่ 3 นาที ผลการทดลองพบว่าครีอะตินินทำให้อนุภาคทองระดับนาโนเกิดการรวมตัวกันส่งผลให้สัญญาณของ surface plasmon resonance เกิดการ shift ไปของค่าความยาวคลื่นสูงสุดจาก 520 นาโนเมตรไปที่ 600 นาโนเมตรและสีของสารละลายเปลี่ยนสีจากสีแดงเป็นสีน้ำเงินหรือม่วงแดง งานวิจัยนี้มีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 15 - 40 ppm โดยมีขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด 13.7 ppm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Yi He และคณะ [27] ได้ทำการพัฒนาการตรวจวัด histone ที่มีวิธีการที่ง่ายและรวดเร็ว เชื่อถือได้ และมี sensitivity ที่ดี โดยทำการตรวจวัดด้วยเทคนิค chemiluminescence resonance energy transfer (CRET) ระหว่าง lucigenin และ อนุภาคของระดับนาโน โดยที่มี lucigenin เป็นตัว donor และ อนุภาคของระดับนาโนเป็นตัว acceptor เมื่อตัว acceptor เข้าไปจับกับตัว donor จะเกิด high CRET แต่ถ้ามี histone เข้ามา histone จะทำให้อนุภาคของระดับนาโนเกิดการรวมตัวเป็นโมเลกุลที่ใหญ่และไม่ไปจับกับตัว donor ทำให้เกิด low CRET จึงสามารถหาปริมาณ histone ได้เนื่องจากสัญญาณที่ได้แปรผันตามความเข้มข้นของ histone งานวิจัยนี้มีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 30 - 500 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด 25 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร

R.T. Ambrose และคณะ [28] ได้ทำการหาปริมาณครีอะตินินในเลือดด้วยเทคนิค high-performance liquid chromatography ใช้ cation-exchange chromatography ในการแยกครีอะตินินออกจากสารอื่นภายในเลือด ใช้ column: strong cation exchange (เป็น stationary phase) และใช้ lithium acetate เป็น mobile phase (ทำ gradient elution) โดย ครีอะตินินจะถูกชะออกมาที่ตรวจวัด ที่ความยาวคลื่น 234 นาโนเมตร งานวิจัยนี้มีขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด 0.01 ไมโครโมลาร์ต่อลิตร

Hong Chi และคณะ [29] ได้ทำการตรวจหาปริมาณเมลามีนในนม ที่ความเข้มข้นระดับ ppb โดยที่ใช้เทคนิค colorimetric method ที่มีอนุภาคของนาโนที่เสถียรด้วยซิเตรทเป็นรีเอเจนต์ เป็นสารละลายที่มีความไวในการวิเคราะห์สูง ทำการทดลองที่ช่วงความเข้มข้นของเมลามีน 0 - 1.5 ไมโครโมลาร์ โดยเมลามีนทำให้อนุภาคของระดับนาโนเกิดการรวมตัวแล้วจะเกิดการเปลี่ยนสีของสารละลายจากสีแดงเป็นสีน้ำเงินภายในเวลา 5 นาที โดยที่เห็นการเปลี่ยนแปลงได้ด้วยตาเปล่า และจากการตรวจวัดด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ผลที่ได้งานวิจัยนี้ทำให้มีวิธีการตรวจวัดที่เร็วและสามารถวิเคราะห์เมลามีนในตัวอย่งนมนได้

Yi He และคณะ [6] ได้พัฒนาวิธีการที่มีความจำเพาะเจาะจงและความว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาสำหรับการตรวจวัดหาปริมาณครีอะตินินโดยการใช้ citrate-stabilized gold-nanoparticles (AuNPs) เป็นตัวทำให้เกิดสีบริเวณโพรบ บนพื้นฐานการเกิดปฏิกิริยาโครงสร้างร่างแห ปรากฏขึ้นระหว่างครีอะตินินและอนุภาคของนาโน เนื่องจากเกิดการรวมตัวของอนุภาคของนาโน และให้ผลลัพธ์ออกมาจากการเปลี่ยนสี จากสีแดงไวน์กลายเป็นสีน้ำเงิน ค่าการดูดกลืนแสงเดิมจะเคลื่อนจาก 520 nm ไปยัง 670 nm ภาคใต้สภาวะการทดลองที่เหมาะสม ค่าการดูดกลืนแสงมีความสัมพันธ์กันโดยตรงกับค่าลอการิทึมความเข้มข้นของครีอะตินิน ในช่วง 0.1 - 20 mM และพบว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่เครื่องสามารถตรวจวัดได้คือ 80 μ M ซึ่งค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่เครื่องสามารถตรวจวัดได้มีปริมาณค่อนข้างดีกว่าวิธีมาตรฐานดั้งเดิม คือวิธี Jaffe method (720 mM) การทดลองนี้แสดงให้เห็นถึงความจำเพาะเจาะจงที่ดี ซึ่งงานวิจัยนี้ประสบผลสำเร็จอย่างมากในการนำมาใช้ตรวจวัดหาปริมาณครีอะตินินในตัวอย่างปัสสาวะมนุษย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 ผลการทบทวนและศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องสรุปได้ดังตารางด้านล่าง

Techniques	Reagent	Analytes and working range	LOD	References
Enzyme	Emzymatic assay	Creatinine in urine (2.5-25 mg/dL)	1.9 mg/dL-1	Talanta 144 (2015) 915–921
fluorescence resonance energy transfer	Gold Nanoparticles	Pb ²⁺ (0.22-4.51 ppm)	30 ppb	Analyst, (2009), 134, 1348–1354
colorimetric. method	Gold Nanoparticles	Creatinine in urine (15-40 ppm)	13.7 ppm	Spectrochimica- Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 138 (2015) 381–386
Chemilumines- cence resonance energy transfer	Gold Nanoparticles	Histone (30-500 ng/ml)	25 ng/ml	Biosensors and Bioelectronics 47 (2013) 313–317
high-performance liquid chromatography	Cation-exchange chromatography	Creatinine in blood	0.01 µM/l	CLINICAL CHEMISTRY, 29/2, 256-259 (1983)
colorimetric method	Gold Nanoparticles	Melamine in milk	-	Analyst, (2010), 135, 1070–1075
colorimetric method	Gold Nanoparticles	Creatinine in urine	80 µM	Microchim Acta (2015) 182:2037– 2043

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

3.1.1 สารเคมี

ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	ยี่ห้อและประเทศผู้ผลิต
Tetrachloroauric (III) acid	$\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	Sigma - Aldrich, USA
Gold foil (purity 99.9%)	-	ช่างแดง, Thailand
Sodium citrate tribasic dihydrate	$\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Sigma - Aldrich, USA
Creatinine	$\text{C}_4\text{H}_7\text{N}_3\text{O}$	Sigma - Aldrich, USA
Sodium hydroxide	NaOH	RANKEM, India
Sodium dihydrogen orthophosphate	$\text{Na}_2\text{H}_2\text{PO}_4$	Analytical reagent, UNIVAR New Zealand
di-Sodium Hydrogen Phosphate heptahydrate	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Panreac, E.U.
Hydrochloric acid	HCl	Carlo Erba Reagent, Spain
Nitric acid	HNO_3	Carlo Erba Reagent, Spain
Poly vinyl alcohol	$(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_{10000}$	Sigma - Aldrich, USA

3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องตรวจวัด

1. ขวดวัดปริมาตร
2. บีกเกอร์
3. ขวดรูปชมพู่
4. ขวดสีชา
5. กระจกนาฬิกา
6. หลอดหยด
7. หลอดทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. แท่งแก้ว
9. ไมโครปิเปต
10. นาฬิกาจับเวลา
11. กระดาษวัด pH
12. เครื่องพีเอชมิเตอร์ (827 pH lab Metrohm)
13. เครื่อง Vortex
14. คิวเวต (Cuvett)
15. เครื่องยูวี – วิสเปิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Jasco V-630)

3.2 การเตรียมสารละลาย

สารละลายทุกตัวเตรียมจากน้ำกลั่นปราศจากไอออนที่ได้จากเครื่อง ZENEER UP 900 (ยี่ห้อ human corporation) และสารเคมีทุกตัวเป็นเกรดวิเคราะห์ (Analytical reagent grade)

3.2.1 การเตรียมสารละลายสำหรับการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนจากเกลือของทอง

3.2.1.1. สารละลายเกลือของทอง (HAuCl_4) ความเข้มข้น 1.0 มิลลิโมลาร์
ละลาย HAuCl_4 0.0394 กรัม ในน้ำกลั่นปราศจากไอออนแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้เป็น 100.00 มิลลิลิตร

3.2.1.2. สารละลายไตรโซเดียมไซเตรต ความเข้มข้น 38.8 มิลลิโมลาร์
ละลายไตรโซเดียมไซเตรต 0.5705 กรัม ในน้ำกลั่นปราศจากไอออนแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้เป็น 50.00 มิลลิลิตร

3.2.2 การเตรียมสารละลายสำหรับการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนจากทองคำเปลว

3.2.2.1 การเตรียมสารละลายกรดกัดทอง 20, 40, 50, 60, 70, 80, 90 และ 100 % w/v

เตรียมสารละลายกรดกัดทอง 100 % โดยเตรียมจากกรดไนตริกเข้มข้น 65 % ผสมกับกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 37 % ในอัตราส่วน 3:1 จากนั้นตวงสารละลายกรดกัดทอง 100 % ที่เตรียมไว้ให้ได้ความเข้มข้น 20, 40, 50, 60, 70, 80, 90 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2.2 การเตรียมสารละลายไตรโซเดียมซิเตรทเข้มข้น 1, 1.2, 1.4, 1.6, 1.8 และ 2 % w/v

ละลายไตรโซเดียมซิเตรท 1.0000 กรัม ด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนจำนวนเล็กน้อยในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนจนถึงขีดบอกปริมาตรจะได้สารละลายไตรโซเดียมซิเตรทเข้มข้น 2 % w/v จากนั้นปิเปตสารละลายไตรโซเดียมซิเตรท 2 % w/v มา 5, 6, 7, 8, 9 มิลลิลิตร แล้วปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้ได้ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จะได้สารละลายไตรโซเดียมเข้มข้น 1, 1.2, 1.4, 1.6 และ 1.8 % w/v

3.2.2.3 การเตรียมสารละลายโพสเฟอัสแอคโกลอซอลเข้มข้น 2, 4, 6 และ 8 % w/v

ละลายโพสเฟอัสแอคโกลอซอล 8.0000 กรัม ด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนจนถึงขีดบอกปริมาตร จะได้สารละลายโพสเฟอัสแอคโกลอซอลเข้มข้น 8 % w/v จากนั้นปิเปตสารละลายโพสเฟอัสแอคโกลอซอล 8 % มา 2.5, 5 และ 7.5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้ได้ปริมาตร 10 มิลลิลิตรจะได้สารละลายโพสเฟอัสแอคโกลอซอลเข้มข้น 2, 4 และ 6 % w/v

3.2.3 การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณครีอะตินินด้วยอนุภาคทองคำนาโน

3.2.3.1 การเตรียม Phosphate buffer เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์

ละลายโมโนโซเดียม ฟอสเฟต 0.3900 กรัม ด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนเล็กน้อย แล้วปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน 230 มิลลิลิตร แล้วเติมผงไดโซเดียม ฟอสเฟต 0.3550 กรัม คนให้ละลายแล้ววัดพีเอชด้วยพีเอชมิเตอร์ ปรับให้ได้พีเอช 6.00 ด้วย 1 โมลาร์ ไฮโดรคลอริก หรือ 1 โมลาร์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ เมื่อได้พีเอช 6.00 แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนในขวดวัดปริมาตร 250 มิลลิลิตร

3.2.3.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานครีอะตินิน

เตรียมครีอะตินินเข้มข้น 1000 ppm ละลายครีอะตินิน 0.0500 กรัม ในน้ำกลั่นปราศจากไอออน แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้เป็น 50.00 มิลลิลิตร จากนั้นเตรียมสารละลายมาตรฐานครีอะตินินเข้มข้น 0, 1, 5, 10, 50, 100, 200 ppm ปิเปตครีอะตินินจากขวดเข้มข้น 1000 ppm มา 0, 0.01, 0.05, 0.10, 0.50, 1.00 และ 2 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนในขวดวัดปริมาตร 10 มิลลิลิตร จะได้สารมาตรฐานครีอะตินินเข้มข้น 0, 1, 5, 10, 50, 100 และ 200 ppm

3.2.4 การเตรียมตัวอย่างปัสสาวะ

การเตรียมตัวอย่างปัสสาวะที่ไม่เจือจาง, เจือจาง 10, 50 และ 100 เท่า เตรียมเป็นปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร โดยปิเปตตัวอย่างปัสสาวะมา 10.0, 1.0, 0.2 และ 0.1 มิลลิลิตร และปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดบอกปริมาตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.5 การเตรียม spike sample (เจือจาง 100 เท่า)

ปิเปตตัวอย่างปัสสาวะมา 0.1 มิลลิลิตร สารละลายมาตรฐานครีอะตินิน 0.1 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดบอกปริมาตร จะได้ spike sample เข้มข้น 10 ppm จากนั้นเตรียม spike sample ที่ความเข้มข้น 50 และ 200 ppm โดยทำการเตรียมเช่นเดียวกัน แต่เปลี่ยนปริมาตรสารละลายมาตรฐานครีอะตินินเป็น 0.5 และ 2.0 มิลลิลิตร จะได้ spike sample เข้มข้น 50 และ 200 ppm

3.3 วิธีดำเนินการทดลอง

3.3.1 ศึกษาวิธีการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนโดยใช้ Turkevich method ด้วยกรดเตตระคลอโรอริคเกอร์ดิเคราะห์

เทสารละลายเกลือของทองเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ 100.00 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250.00 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนพร้อมทั้งปั่นกวนด้วยแท่งแม่เหล็ก เมื่อสารละลายเกลือของทองเดือด เติมสารละลายไตรโซเดียมไซเตรตเข้มข้น 38.8 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 7.00 มิลลิลิตร ลงไปอย่างรวดเร็ว แล้วให้ความร้อนแก่สารละลายต่อไปอีก 10 นาที สารละลายจะเปลี่ยนสีจากสีเหลืองอ่อนเป็นสีแดงไวน์ทั้งให้สารละลายเย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง จะได้สารละลายทองระดับนาโน

3.3.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์อนุภาคทองนาโนที่เตรียมจากเกลือของทอง

3.3.2.1 ศึกษาความเข้มข้นของอนุภาคทองนาโนที่เหมาะสม

ทำการศึกษาความเข้มข้นอนุภาคทองนาโนที่เหมาะสมในการตรวจวัด โดยทำการเจือจางอนุภาคทองนาโนจากที่สังเคราะห์ได้จาก 3.3.1 โดยปิเปตมา 9.5 มิลลิลิตร และ 6.5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนในขวดวัดปริมาตร 25 มิลลิลิตร จะได้สารละลายอนุภาคทองนาโนเข้มข้น 0.77 และ 0.52 นาโนโมลาร์ ตามลำดับ แล้วนำสารละลายอนุภาคทองนาโนทั้ง 2 ขวด ไปทำการตรวจหาปริมาณครีอะตินิน

3.3.2.2 ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการตรวจวัด

ทำการศึกษาเวลาที่เหมาะสมโดยปิเปตสารละลายอนุภาคทองระดับนาโน 1.00 มิลลิลิตร, Phosphate buffer 5 มิลลิลิตร และสารมาตรฐานครีอะตินินที่มีความเข้มข้นต่างๆ 0.05 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองนำไปปั่นเหวี่ยง (vertex) เป็นเวลา 30 วินาที แล้วตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง ยูวี - วิสเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ที่นาที่ที่ 1, 3, 5 และ 10 นาที

3.3.3 ศึกษาวิธีการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนโดยใช้ Turkevich method ด้วยเกลือของทองจากทองคำเปลว

ปีเปตสารละลายกรดเตตระคลอโรอริก 5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นในขวดวัดปริมาตร 50 มิลลิลิตร ปรับพีเอชด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์จนได้พีเอช 2.00 โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1.0 M นำสารละลายที่ปรับพีเอชแล้วมาสังเคราะห์ ต้มสารละลายกรดเตตระคลอโรอริก 25 มิลลิลิตรในขวดรูปชมพู่ขนาด 50 มิลลิลิตรให้ความร้อน 275 องศาเซลเซียสพร้อมปั่นกวน เมื่อสารละลายเดือด (90 °C) เติมสารละลายไตรโซเดียมซิเตรทเข้มข้น 1.2 % w/v ปริมาตร 7.00 มิลลิลิตรลงไปอย่างรวดเร็ว รอจนสารละลายเริ่มเห็นว่ามีสีม่วงแดงเกิดขึ้น ให้เติม PVA 2% w/v ลงไป 0.50 มิลลิลิตรและยกลงจากฮอตเพลตทันที แล้วทิ้งไว้ให้เย็นถึงอุณหภูมิห้อง (ปั่นกวนตลอดเวลา) แล้วไปวัดสเปกตรัม

3.3.4 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการละลายแผ่นทองคำเปลวและการสังเคราะห์อนุภาคทองนาโนที่เตรียมจากทองคำเปลว

3.3.4.1 ศึกษาปริมาตรกรดกัดทองที่ใช้ในการละลายแผ่นทองคำเปลว

ละลายแผ่นทองคำเปลวบริสุทธิ์ 0.1000 กรัม ในสารละลายกรดกัดทอง 100 % w/v ที่ปีเปตมา 5, 10, 15, และ 20 มิลลิลิตรใส่ในบีกเกอร์ 50 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนด้วยเครื่องให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 275 องศาเซลเซียส พร้อมปั่นกวนเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จนทองละลายหมด นำสารละลายทองที่ได้ไปตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วนำไปกรองตะกอนด้วยกระดาษกรองเบอร์ 2 นำตะกอนที่ได้ไปอบให้แห้งแล้วชั่งน้ำหนัก สารละลายทองที่ได้เทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร

3.3.4.2 ศึกษาความเข้มข้นของกรดกัดทองที่ใช้ในการละลายแผ่นทองคำเปลว

นำสารละลายกรดกัดทองความเข้มข้นต่างๆที่เตรียมจาก 3.2.2.1 มาละลายแผ่นทองคำเปลวบริสุทธิ์ 0.1000 กรัม ดำเนินการทดลองต่อตามข้อ 3.3.4.1

3.3.4.3 ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการละลายแผ่นทองคำเปลว

ละลายแผ่นทองคำเปลวบริสุทธิ์ด้วยกรดกัดทองโดยที่ใช้เวลาในการละลายดังนี้ 10, 20, 30, 40, 50 และ 60 นาที ดำเนินการทดลองต่อตาม 3.3.4.1

3.3.4.4 ศึกษาพีเอชที่เหมาะสมในการสังเคราะห์

ปีเปตสารละลายเกลือของทองที่ได้จากการละลายแผ่นทองคำเปลว (กรดกัดทอง 80 % w/v) มา 25.00 มิลลิลิตรใส่ในขวดวัดปริมาตร 25.00 มิลลิลิตรปรับ pH ให้ได้ 2 โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1.0 M นำสารละลายที่ปรับพีเอชแล้วมาสังเคราะห์ ต้มสารละลายกรดเตตระคลอโรอริก 25 มิลลิลิตรในขวดรูปชมพู่ขนาด 50 มิลลิลิตรให้ความร้อน 275 องศาเซลเซียสพร้อมปั่นกวน เมื่อสารละลายเดือด (90 °C) เติมสารละลายไตรโซเดียมซิเตรทเข้มข้น 1.2 % ปริมาตร 3.5 มิลลิลิตรลงไปอย่างรวดเร็ว รอจนสารละลายเริ่มเห็นว่ามีสีม่วงแดงเกิดขึ้น ให้เติม

PVA 2% w/v ลงไป 0.25 มิลลิลิตรและยกลงจากฮอตเพลตทันที แล้วทิ้งไว้ให้เย็นถึงอุณหภูมิห้อง (ปั่นกวนตลอดเวลา) แล้วไปวัดสเปกตรัมทำการทดลองซ้ำแต่เปลี่ยนเป็น pH 3 และ 4

3.3.4.5 ศึกษาความเข้มข้นของสารละลายไตรโซเดียมซิเตรทที่เหมาะสมในการสังเคราะห์

ปิเปตสารละลายเกลือของทองที่ได้จากการละลายแผ่นทองคำเปลว (กรดกัดทอง 80 % w/v) มา 25.00 มิลลิลิตรใส่ในขวดวัดปริมาตร 25.00 มิลลิลิตรปรับ pH ให้ได้ 2 โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1.0 M นำสารละลายที่ปรับพีเอชแล้วมาสังเคราะห์ ต้มสารละลายกรดเตตระคลอโรอริก 25 มิลลิลิตรในขวดรูปชมพู่ขนาด 50 มิลลิลิตรให้ความร้อน 275 องศาเซลเซียสพร้อมปั่นกวน เมื่อสารละลายเดือด (90 °C) เติมสารละลายไตรโซเดียมซิเตรทเข้มข้น 1 % w/v ปริมาตร 3.5 มิลลิลิตรลงไปอย่างรวดเร็ว รอจนสารละลายเริ่มเห็นว่ามีสีม่วงแดงเกิดขึ้นให้เติม PVA 2% w/v ลงไป 0.25 มิลลิลิตรและยกลงจากฮอตเพลตทันที แล้วทิ้งไว้ให้เย็นถึงอุณหภูมิห้อง (ปั่นกวนตลอดเวลา) แล้วไปวัดสเปกตรัมทำการทดลองซ้ำแต่เปลี่ยนความเข้มข้นไตรโซเดียมซิเตรทเป็น 1.2, 1.4, 1.6 และ 1.8 % w/v

3.3.5 ศึกษาหลักการตรวจวัดครีอะตินินด้วยอนุภาคทองคำนาโน

ในการศึกษาหลักการตรวจวัดครีอะตินินด้วยอนุภาคทองคำระดับนาโนที่เตรียมจากเกลือของทอง โดยปิเปตสารละลายอนุภาคทองคำระดับนาโน 1.00 มิลลิลิตร, Phosphate buffer 5 มิลลิลิตร และสารมาตรฐานครีอะตินินที่ความเข้มข้นต่างๆ 0.05 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองนำไปปั่นเหวี่ยง (vertex) เป็นเวลา 30 วินาที แล้วตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ที่นาที่ 1 นาที่ โดยใช้น้ำกลั่นปราศจากไอออนแทนสารละลายตัวอย่างในการเตรียมสารละลายแบลนด์

ในการศึกษาหลักการตรวจวัดครีอะตินินด้วยอนุภาคทองคำระดับนาโนที่เตรียมจากแผ่นทองคำเปลว ทำการทดลองเหมือนกรดเตตระคลอโรอริกเกรดวิเคราะห์แต่เพิ่มเวลาในการตรวจวัดที่ 3 นาที

3.3.6 ศึกษาความเที่ยงของการตรวจวัด

ดำเนินการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานครีอะตินินความเข้มข้น 1, 50 และ 200 ppm จำนวน 5 ครั้ง จากนั้นคำนวณค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสง

3.3.7 การหาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดและขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ

ดำเนินการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายแปลงค์จำนวน 3 ครั้ง จากนั้นคำนวณหาส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสง และนำไปคำนวณหาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดและขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ

3.3.8 ศึกษาอิทธิพลการเจือจางตัวอย่างปัสสาวะ

นำตัวอย่างปัสสาวะที่เตรียมจาก 3.2.4 มาทำการตรวจหาปริมาณครีอะตินินในตัวอย่างปัสสาวะด้วยอนุภาคทองคำนาโนที่เตรียมจากทองคำเปลว โดยทำการทดลองเหมือน 3.3.5 แต่เปลี่ยนสารละลายมาตรฐานครีอะตินินเป็นตัวอย่างปัสสาวะ

3.3.9 การหาปริมาณครีอะตินินในตัวอย่างปัสสาวะด้วยอนุภาคทองคำนาโนที่เตรียมจากทองคำเปลว

นำ spike sample ที่เตรียมได้จาก 3.2.5 มาหาปริมาณครีอะตินินในตัวอย่างปัสสาวะด้วยอนุภาคทองคำนาโนที่เตรียมจากทองคำเปลว โดยทำการทดลองเช่นเดียวกับ 3.3.5 แต่เปลี่ยนสารละลายมาตรฐานครีอะตินินเป็นสารตัวอย่างปัสสาวะ(เจือจาง 100 เท่า) และ spike sample ที่ความเข้มข้น 10, 50 และ 200 ppm

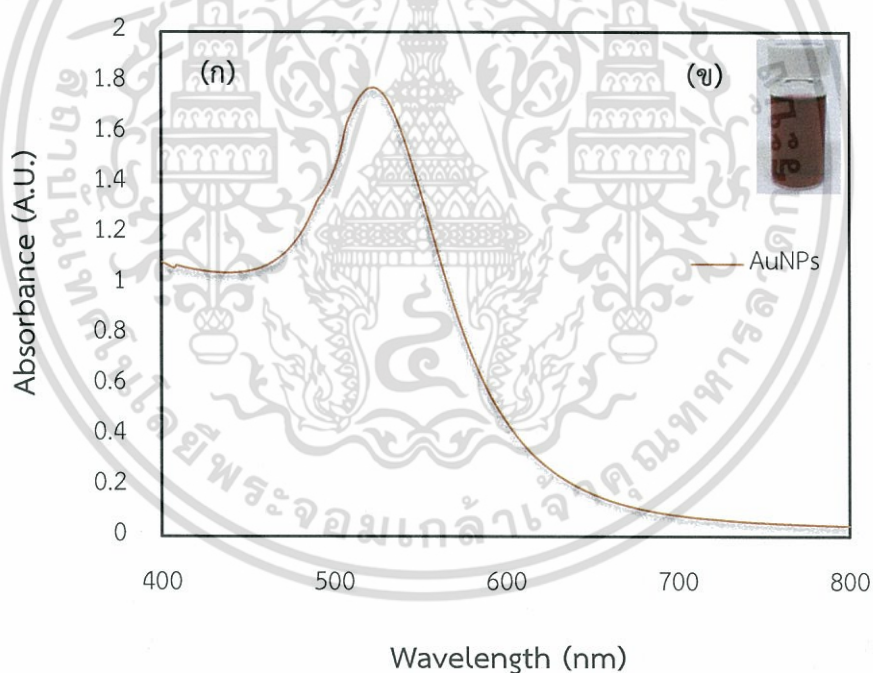
บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

ผลการทดลองในบทที่ 4 สามารถแบ่งผลการทดลองออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ 1 เป็นผลการทดลองเมื่อศึกษาด้วยอนุภาคทองคำนาโนที่เตรียมจากเกลือของทอง (HAuCl_4) ตั้งแต่หัวข้อ 4.1 ถึง 4.3 และกลุ่มที่ 2 เป็นผลการทดลองเมื่อศึกษาด้วยอนุภาคทองคำนาโนที่เตรียมจากแผ่นทองคำเปลว ตั้งแต่หัวข้อ 4.4 เป็นต้นไป

4.1 การสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนจากวิธีเทอร์คัลวิซโดยใช้ HAuCl_4 เป็นสารตั้งต้น

ได้ทำการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนแล้วทำการวัดค่าดูดกลืนแสงในช่วง 400 - 800 นาโนเมตร ซึ่งได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.1



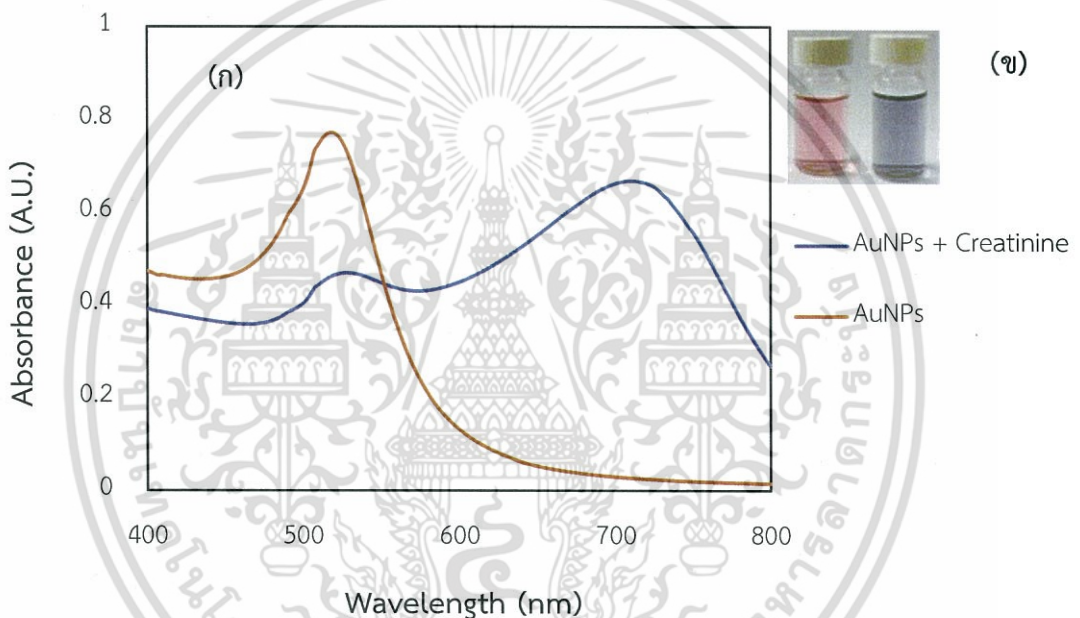
รูปที่ 4.1 (ก) แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนที่เตรียมจาก HAuCl_4 และ (ข) แสดงรูปถ่ายสารละลายทองระดับนาโนที่สังเคราะห์ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองในรูปที่ 4.1 พบว่าสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนที่สังเคราะห์ได้มีสีแดงไวน์ และเมื่อทำการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสง พบว่าอนุภาคทองระดับนาโนสามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่นบริเวณ 523 นาโนเมตร

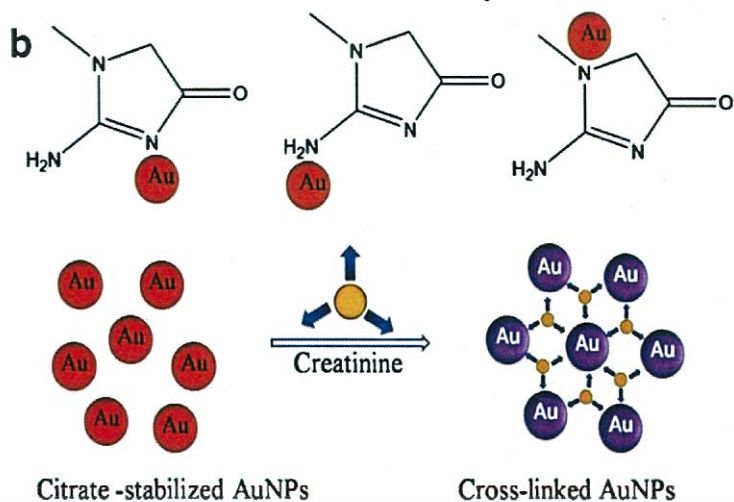
4.2 การศึกษาปฏิกิริยาการตรวจวัดครีเอตินินด้วยอนุภาคทองระดับนาโน

ได้ศึกษาการประยุกต์ใช้อนุภาคทองนาโนที่สังเคราะห์โดยใช้ HAuCl_4 เป็นสารตั้งต้นในการตรวจวัดครีเอตินิน โดยนำอนุภาคทองนาโนทำปฏิกิริยากับครีเอตินิน แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ได้ผลการทดลอง ดังรูปที่ 4.2 โดยมีกลไกในการเกิดปฏิกิริยาของอนุภาคทองระดับนาโนกับครีเอตินินเป็นดังรูปที่ 4.3



รูปที่ 4.2 (ก) แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองนาโนเมื่อไม่ได้ทำปฏิกิริยากับครีเอตินิน (—) เมื่อทำปฏิกิริยากับครีเอตินิน (—) และ (ข) แสดงรูปถ่ายสารละลายอนุภาคทองนาโนที่สังเคราะห์ได้จะมีสีแดงไวน์ และเมื่อทำปฏิกิริยากับครีเอตินินสีสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน

อันตรกิริยาระหว่างอนุภาคทองระดับนาโนกับครีเอตินินเป็นไปตามทฤษฎี Hard-Soft Acid-Base (HSAB) โดยที่หมู่เอมีน (-NH) ของครีเอตินินจะเกิดอันตรกิริยากับพื้นผิวของอนุภาคทองระดับนาโน และเหนี่ยวนำให้เกิดการรวมตัวของครีเอตินินแต่ละโมเลกุลโดยกลไกในการเกิดปฏิกิริยาของอนุภาคทองระดับนาโนกับครีเอตินิน ดังรูปที่ 4.3

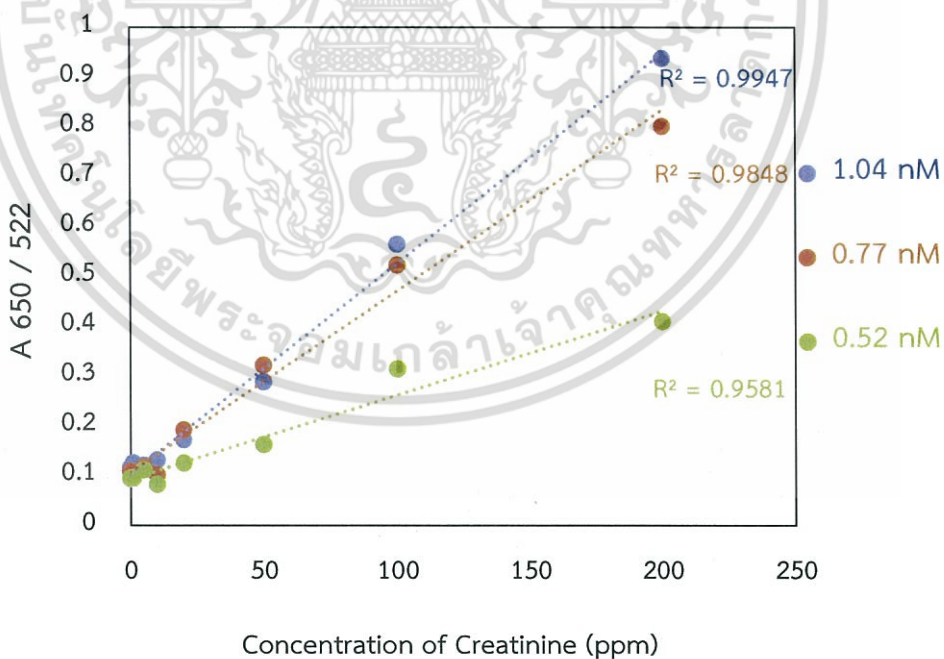


รูปที่ 4.3 แสดงกลไกในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างอนุภาคทองคำนาโนกับครีเอตินีน

4.3 การศึกษาอิทธิพลของตัวแปรที่ส่งผลต่อการตรวจวัด

4.3.1 อิทธิพลของความเข้มข้นอนุภาคทองคำนาโน

ทำการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของอนุภาคทองคำนาโนที่ส่งผลต่อการตรวจวัดโดยทำการศึกษาอนุภาคทองคำนาโนที่ความเข้มข้น 1.04, 0.77 และ 0.52 นาโนโมลาร์ พบว่าได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.4



รูปที่ 4.4 กราฟมาตรฐานของความเข้มข้นทองที่ 1.04, 0.77 และ 0.52 นาโนโมลาร์

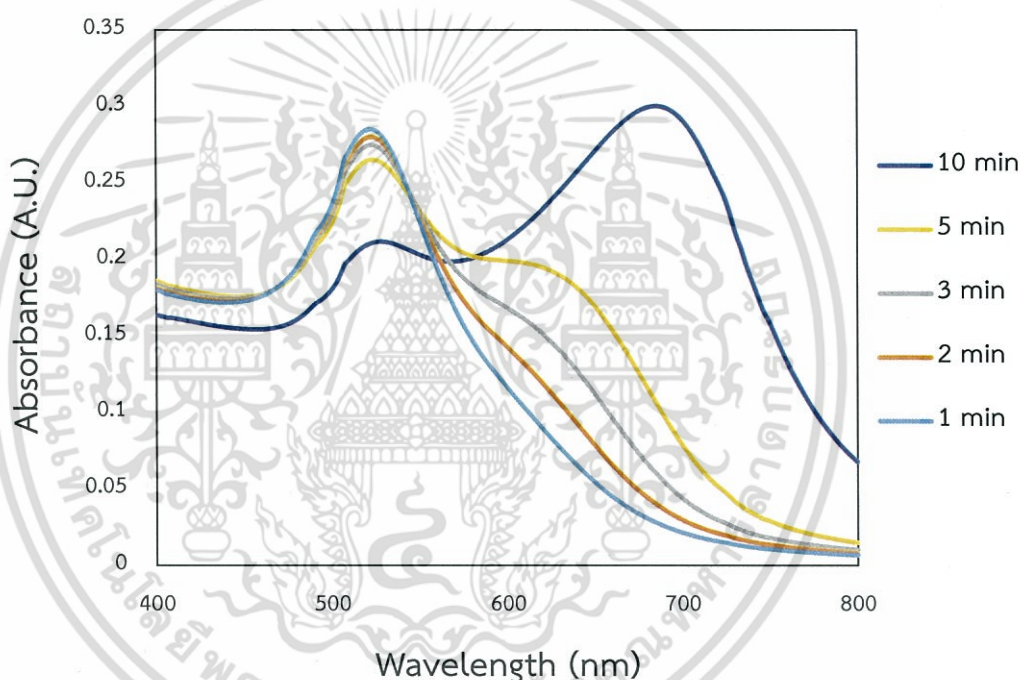
จากรูปที่ 4.4 เป็นผลของความเข้มข้นอนุภาคทองคำนาโนที่ส่งผลต่อการตรวจวัด ซึ่งได้ทำการศึกษาความเข้มข้นทองที่ 1.04, 0.77 และ 0.52 นาโนโมลาร์ พบว่าที่ความเข้มข้น 1.04 นาโนโมลาร์ ให้ความเป็นเส้นตรงที่ดีที่สุด ส่วนที่ความเข้มข้นต่ำลงมากจะเห็นว่าให้ความเป็นเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์หรือการเขียนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาตจากเจ้าของลิขสิทธิ์ใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

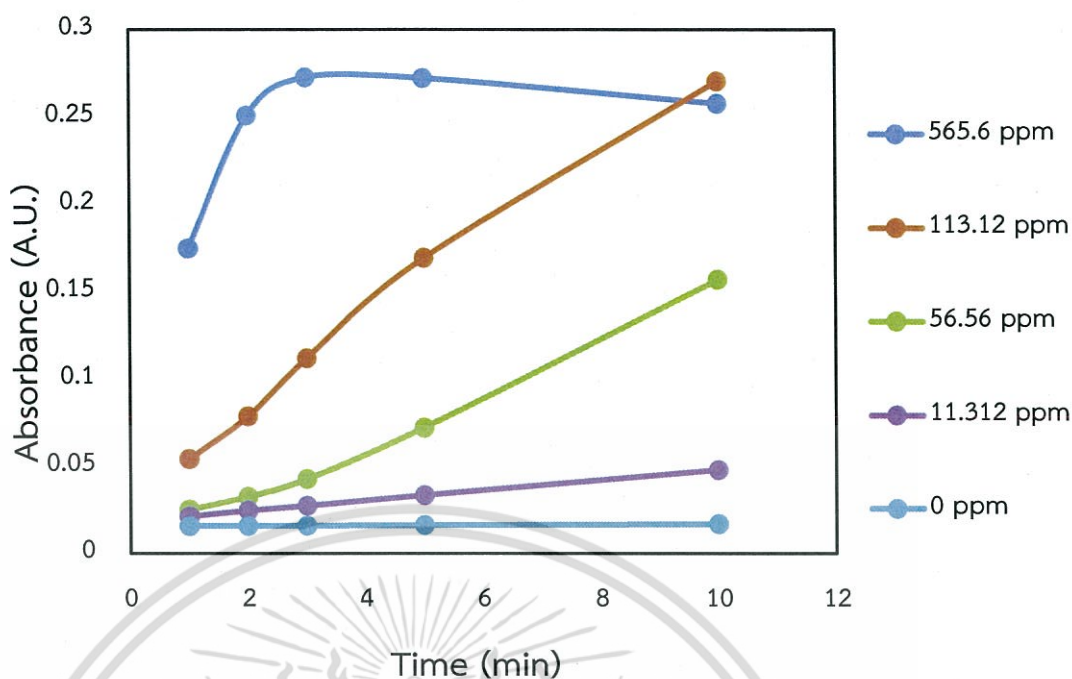
เส้นตรงลดลง เนื่องจากอนุภาคทองนาโนที่เข้มข้นน้อยอาจเข้มข้นไม่พอที่จะทำให้เกิดการรวมกันระหว่างคริสตัลลิตกับอนุภาคทองนาโน ดังนั้นจึงเลือกความเข้มข้นอนุภาคทองนาโนที่ใช้ในการตรวจวัดที่ 1.04 นาโนโมลาร์

4.3.2 อิทธิพลของเวลาในการตรวจวัด

ได้ทำการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการตรวจวัดคริสตัลลิต โดยทำการตรวจวัดตั้งแต่ 1 - 10 นาที โดยทำการทดลองกับคริสตัลลิตที่มีความเข้มข้น 0, 11.312, 56.56, 113.12 และ 565.6 ppm ได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.4 และ 4.5



รูปที่ 4.5 แสดงสเปกตรัมการรวมตัวของอนุภาคทองนาโนกับคริสตัลลิตความเข้มข้น 56.56 ppm ที่เวลาในการผสม 1, 2, 3, 5 และ 10 นาที



รูปที่ 4.6 แสดงอัตราการเกิดปฏิกิริยาการรวมกันของอนุภาคทองคำนาโนกับครีอะตินินที่ความเข้มข้น 0, 11.312, 56.56, 113.12 และ 565.6 ppm

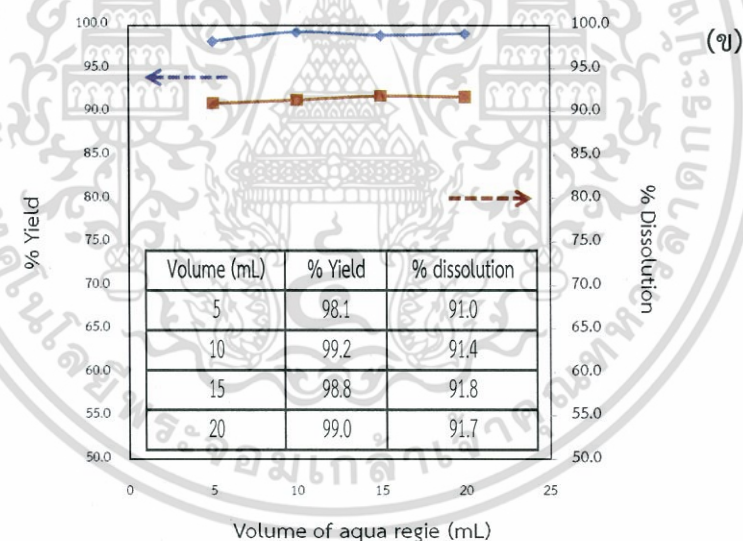
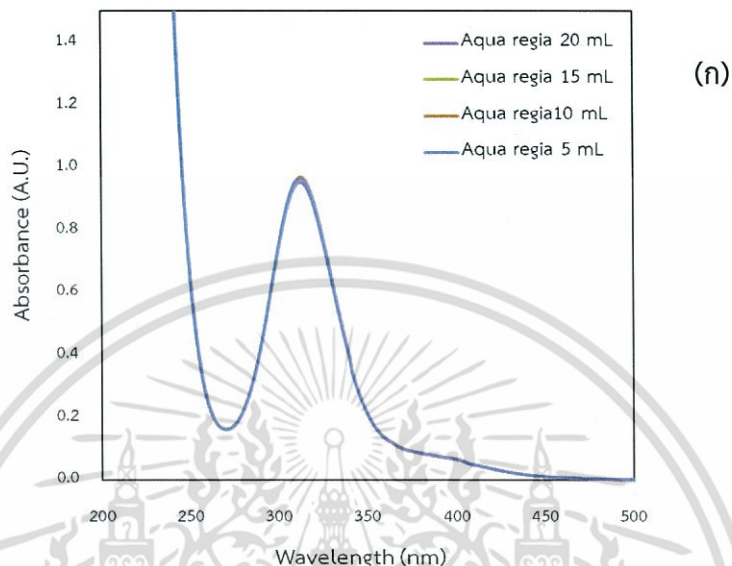
จากผลการทดลองรูปที่ 4.4 แสดงสเปกตรัมการรวมตัวของอนุภาคทองคำนาโนกับครีอะตินินที่ความเข้มข้น 56.56 ppm พบว่าเมื่อระยะเวลาในการตรวจวัดเพิ่มขึ้น จะทำให้การรวมตัวของอนุภาคทองคำนาโนกับครีอะตินินเพิ่มมากขึ้นด้วย ซึ่งจากรูปที่ 4.5 จะเห็นว่าปฏิกิริยาการรวมตัวของอนุภาคทองคำนาโนกับครีอะตินิน จะเกิดได้ดีในช่วงระยะเวลาที่ 1 - 3 นาที เห็นได้จากค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องในช่วงเวลา 1 - 3 นาที โดยจะเห็นชัดเจนเมื่อศึกษาด้วยสารละลายมาตรฐานครีอะตินินความเข้มข้นสูงๆ เช่นที่ 113.12 ppm และจะเริ่มคงที่ตั้งแต่เวลาที่ 5 เป็นต้นไป ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกใช้ระยะเวลาในการตรวจวัดที่ 1 นาที เป็นเวลาน้อยที่สุดในการเกิดปฏิกิริยาที่ค่อนข้างสมบูรณ์ ทั้งยังทำให้ระยะเวลาในการตรวจวัดไม่ยาวนานเกินไปอีกด้วย

4.4 การศึกษาการละลายแผ่นทองคำเปลวและการเตรียมอนุภาคทองคำนาโนจากทองคำเปลว

4.4.1 อิทธิพลของปริมาตรของกรดกัดทอง

ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของปริมาตรกรดกัดทองที่มีผลต่อการละลายแผ่นทองคำเปลว

โดยทำการศึกษาที่ปริมาตรตั้งแต่ 5-20 มิลลิลิตร พบว่าได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.6



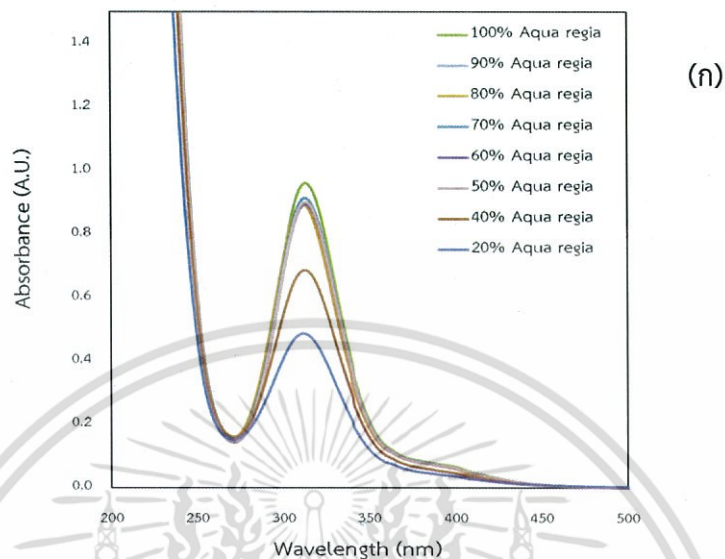
รูปที่ 4.7 (ก) สเปกตรัมของ HAuCl_4 ที่ได้จากการละลายทองคำเปลว และ (ข) กราฟเปอร์เซ็นต์การละลายของทองคำเปลวและร้อยละผลิตภัณฑ์เทียบกับปริมาตรกรดกัดทองที่ใช้ในการละลาย

จากผลการทดลอง (รูปที่ 4.7) พบว่าทุกปริมาตรที่ทำการศึกษสามารถละลายทองคำเปลวได้หมด โดยตะกอนที่เหลือจากการละลายมีน้ำหนักที่ไม่ต่างกัน ดังนั้นจะใช้กรดกัดทองที่ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ในการทดลองต่อไป

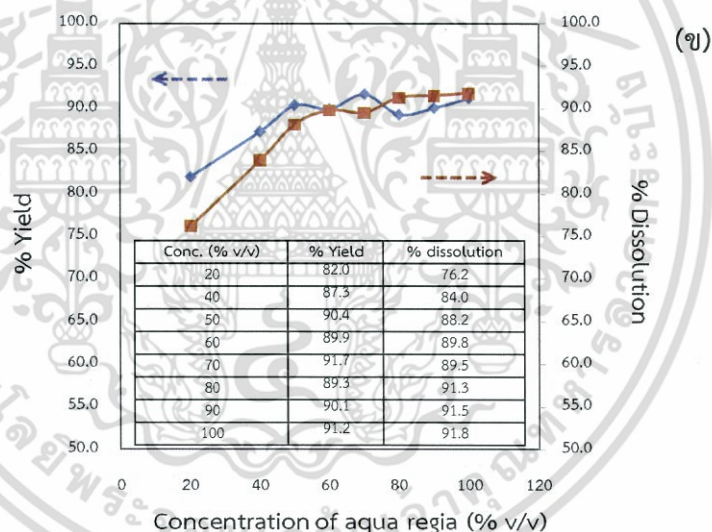
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.2 อิทธิพลของความเข้มข้นของกรดกัดทอง

ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นกรดกัดทองที่มีผลต่อการละลายแผ่นทองคำเปลว โดยทำการศึกษาความเข้มข้นกรดกัดทองตั้งแต่ 20-100 % พบว่าได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.8



(ก)



(ข)

รูปที่ 4.8 (ก) สเปกตรัมของ HAuCl_4 ที่ได้จากการละลายทองคำเปลว และ (ข) กราฟเปอร์เซ็นต์การละลายของทองคำเปลวและร้อยละผลิตภัณฑ์เทียบกับความเข้มข้นของกรดกัดทองที่ใช้ในการละลาย

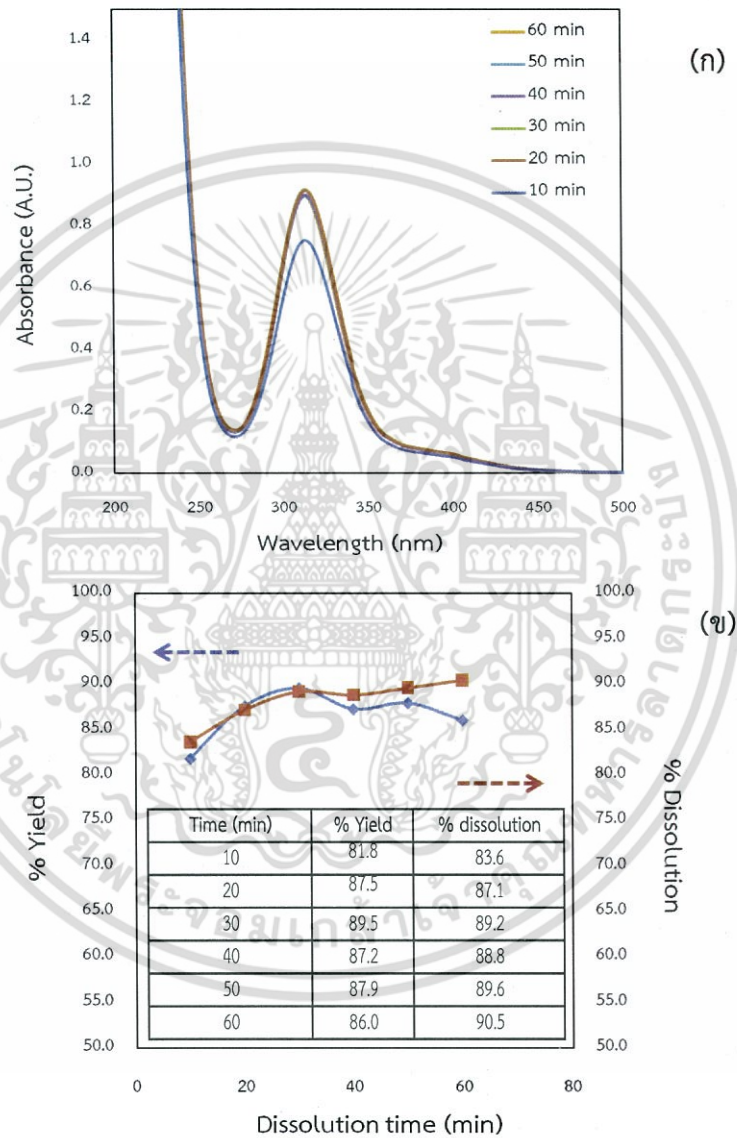
จากผลการทดลอง (รูปที่ 4.8) พบว่ากรดกัดทองที่ความเข้มข้น 80, 90 และ 100 % (ปริมาตรที่ใช้ 5 มิลลิลิตร) สามารถละลายทองคำเปลวได้ไม่แตกต่างกัน โดยสามารถละลายได้มากกว่า 90% ซึ่งส่วนตะกอนที่เหลืออาจจะเป็นส่วนผสมอื่นๆ ที่มีการเติมลงไปทองคำที่นำมาตีเป็นทองคำเปลว ส่วนที่ความเข้มข้น 50 - 70 % สามารถละลายทองคำเปลวได้ไม่แตกต่างกัน และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การละลายเริ่มต่ำลงไปอีก ดังนั้นเพื่อไม่เป็นการใช้กรดกัดทองเข้มข้นจนเกินไป และยังคงมีความสามารถในการทำละลายที่ดีอยู่ จึงเลือกใช้กรดกัดทองที่ความเข้มข้น 50% ในการทดลองต่อไป

4.4.3 อิทธิพลของเวลาที่ใช้ในการละลายแผ่นทองคำเปลว

ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของเวลาที่ใช้ในการละลายแผ่นทองคำเปลว โดยทำการศึกษาเวลาที่ใช้ในการละลายตั้งแต่ 10-60 นาที พบว่าได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.9



รูปที่ 4.9 (ก) สเปกตรัมของ HAuCl₄ ที่ได้จากการละลายทองคำเปลว และ (ข) กราฟเปอร์เซ็นต์การละลายของทองคำเปลวและร้อยละผลิตภัณฑ์เทียบกับเวลาที่ใช้ในการละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

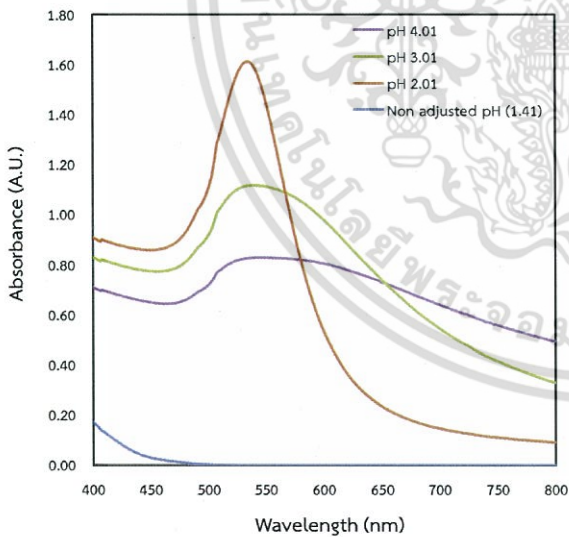
จากผลการทดลอง (รูปที่ 4.9) พบว่าเมื่อใช้เวลาในการละลายมากขึ้น (ปริมาตรกรดกัดทองที่ใช้ 5 มิลลิลิตร ความเข้มข้น 50%) ทองคำเปลวสามารถละลายได้สูงขึ้น แต่เมื่อเพิ่มเวลาดังตั้ง 30 นาที ขึ้นไป จนถึง 60 นาที พบว่าเปอร์เซ็นต์การละลายไม่มีความแตกต่างกัน ดังนั้นจะเลือกเวลา 30 นาที สำหรับใช้ในการละลายทองคำเปลว

ตารางที่ 4.1 สรุปสภาวะที่เหมาะสมในการละลายแผ่นทองคำเปลว

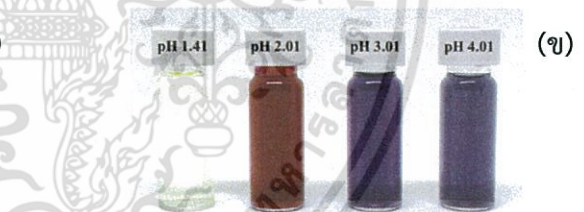
Parameters	Optimal condition
Volume of aqua regia	5.0 ml
Aqua regia concentration	80.0 %
Time of dissolution	30 min

4.4.4 อิทธิพลของพีเอช

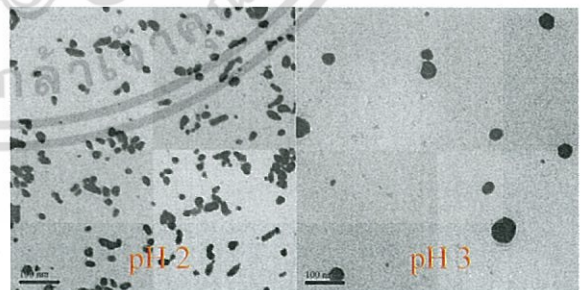
ทำการศึกษาอิทธิพลของพีเอชของสารละลายกรดเตตระคลอโรอริกที่มีผลต่อการสังเคราะห์ โดยทำการศึกษาที่พีเอช 2.0-4.0 พบว่าได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.10



(ก)



(ข)



(ค)

รูปที่ 4.10 (ก) สเปกตรัมของ AuNPs ที่สังเคราะห์จาก HAuCl_4 ที่ได้จากการใช้กรดกัดทองเข้มข้น 80% , (ข) แสดงรูปถ่ายของสารละลาย และ (ค) แสดงภาพถ่ายTEM ของอนุภาคที่ได้จากการสังเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.10 เมื่อใช้ HAuCl_4 ที่ได้จากการละลายทองคำเปลว (ปริมาตรกรดกัดทองที่ใช้ 5 mL ความเข้มข้น 80%) มาสังเคราะห์ AuNPs จะเห็นได้ว่า

- เมื่อไม่ปรับ pH (1.41)

หลังจากการสังเคราะห์แล้ว พบว่าไม่มีอนุภาคใดๆ เกิดขึ้น โดยสีของสารละลายยังคงเป็นสีเหลือง ไม่มีการเปลี่ยนแปลงใดๆ

- เมื่อปรับ pH = 2.01

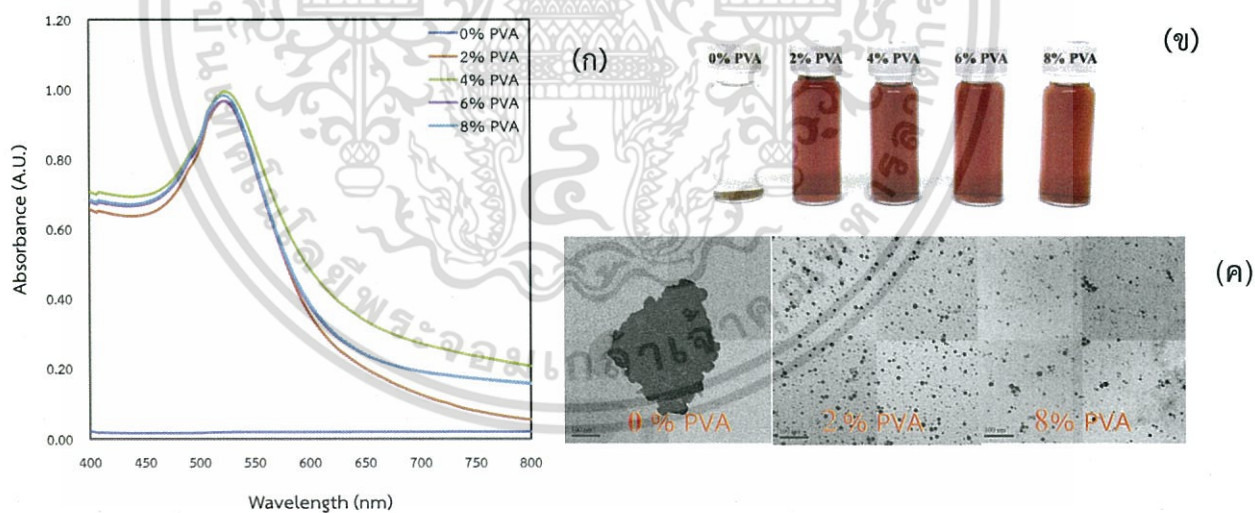
เกิดเป็นอนุภาคทองคำนาโนที่ดีที่สุด สารละลายที่ได้มีสีแดงไวน์ คล้ายกับเมื่อใช้ HAuCl_4 (เกลือของทอง)

- เมื่อปรับ pH = 3.01 และ 4.01

อนุภาคที่ได้มีขนาดใหญ่ สังเกตได้จากสเปกตรัมที่ broad

4.4.5 ความเข้มข้นของโพลีไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) ที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์

ทำการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของโพลีไวนิลแอลกอฮอล์ ที่มีผลต่อการสังเคราะห์อนุภาคทองคำนาโน โดยทำการศึกษาความเข้มข้นของโพลีไวนิลแอลกอฮอล์ ตั้งแต่ 0-8 % พบว่าได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.11



รูปที่ 4.11 (ก) สเปกตรัมของ AuNPs ที่สังเคราะห์จาก HAuCl_4 ที่ได้จากการละลายทองคำเปลวที่ใช้ PVA ความเข้มข้นต่างๆ , (ข) แสดงรูปถ่ายของสารละลาย และ (ค) แสดงภาพถ่าย TEM ของอนุภาคที่ได้จากการสังเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.11 เมื่อใช้ HAuCl_4 ที่ได้จากการละลายทองคำเปลว (ปริมาตรกรดกัดทองที่ใช้ 5 มิลลิลิตร ความเข้มข้น 80%) ปรับ pH เท่ากับ 2 มาสังเคราะห์ AuNPs และใช้ PVA ที่ความเข้มข้นต่างๆ จะเห็นได้ว่า

- เมื่อไม่เติม PVA (0% PVA)

จากการสังเคราะห์พบว่า เมื่อเติม 1.4% sodium citrate ลงไป สารละลายเริ่มเปลี่ยนเป็นสีม่วงอ่อนจากนั้นตกตะกอนทั้งหมด และเห็นสารละลายใส เพราะว่าการใช้ HAuCl_4 ที่ได้จากการละลายทองคำเปลว จะมีกรดกัดทองเหลืออยู่ จึงต้องมีการปรับ pH ด้วย NaOH ดังนั้นในสารละลายจึงมีประจุอยู่เป็นจำนวนมาก เมื่ออนุภาคนาโนเกิดขึ้นโดยมีซิเตรทเป็น stabilizer ประจุต่างๆที่อยู่ในสารละลายจะมารล้อมรอบอนุภาค และดึงดูดอนุภาคข้างเคียงเข้ามา ทำให้เกิดการรวมตัวและตกตะกอนลงมาทั้งหมด เมื่อวัดสเปกตรัม จึงไม่เกิดพีคในช่วงความยาวคลื่นของอนุภาคทองคำนาโน (515 – 535 nm)

- เติม 2% PVA

จากการสังเคราะห์พบว่า หลังจากเติม PVA ลงไป จากสารละลายที่มีสีม่วง สีจะเริ่มเข้มขึ้นและเปลี่ยนเป็นสีแดงไวน์ ซึ่ง PVA ที่เติมลงไปจะทำหน้าที่เป็น stabilizer ช่วยให้อนุภาคทองคำนาโนที่เกิดขึ้นแขวนลอยอยู่ในสารละลายได้ และเมื่อตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง ไม่พบตะกอนเกิดขึ้นเมื่อวัดสเปกตรัม พบพีคของอนุภาคทองคำนาโนเกิดขึ้น ($\lambda_{\max} = 524 \text{ nm}$)

- เติม 4% PVA

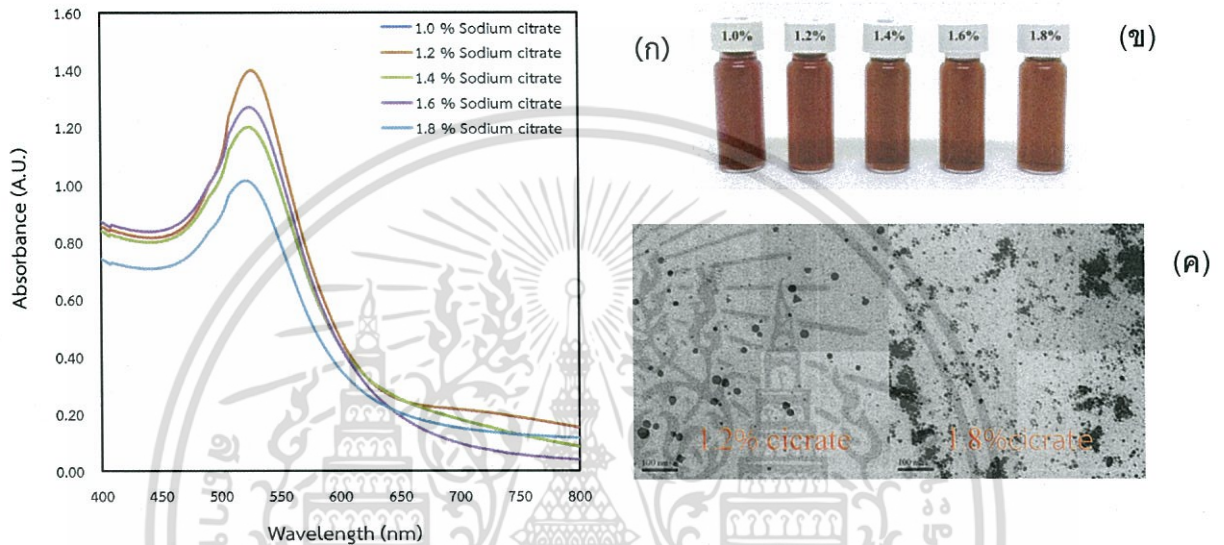
ผลที่ได้เหมือนกับคล้ายกับเมื่อเติม 2% PVA แต่ในส่วนของสเปกตรัมของ 4% PVA พบว่าในช่วงความยาวคลื่นมากกว่า 600 nm เป็นต้นไป ค่าดูดกลืนแสงค่อนข้างสูงกว่าเมื่อใช้ 2% PVA อาจจะเป็นผลมาจาก PVA ที่มากเกินไปที่ไปห่อหุ้มอนุภาคไว้ ทำให้อนุภาคเสมือนมีขนาดที่ใหญ่จึงมีค่าดูดกลืนแสงในย่านที่สูงขึ้นเล็กน้อย

- เติม 6% และ 8% PVA

จากการสังเคราะห์พบว่า หลังจากเติม PVA ลงไป จากสารละลายที่มีสีม่วง สีจะเริ่มเข้มขึ้นและเปลี่ยนเป็นสีแดงไวน์ และเมื่อตั้งทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง พบว่ามีการตกตะกอนของอนุภาคที่ใหญ่ อาจเป็นผลมาจากการใช้ PVA ที่มากเกินไป จึงมี PVA จำนวนมากมารล้อมรอบอนุภาค เมื่อวัดสเปกตรัมยังคงพบพีคของอนุภาคทองคำนาโนเกิดขึ้น ($\lambda_{\max} = 521 \text{ nm}$)

4.4.6 ศึกษาความเข้มข้นของไตรโซเดียมซิเตรทที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์อนุภาคทองคำ

ทำการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของไตรโซเดียมซิเตรทที่มีผลต่อการสังเคราะห์อนุภาคทองคำ โดยทำการศึกษาความเข้มข้นของไตรโซเดียมซิเตรทตั้งแต่ 1.0-1.8 % พบว่าได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.12



รูปที่ 4.12 (ก) สเปกตรัมของ AuNPs เมื่อใช้ Sodium citrate ความเข้มข้นต่างๆ (ข) แสดงรูปถ่ายของสารละลาย และ (ค)แสดงภาพถ่ายTEM ของอนุภาคที่ได้จากการสังเคราะห์

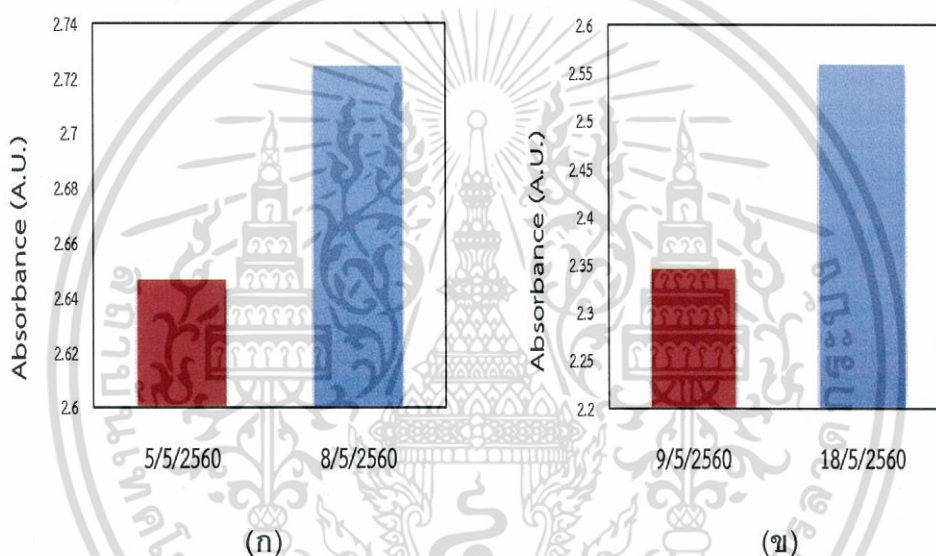
จากรูปที่ 4.12 เมื่อศึกษาความเข้มข้นของ Sodium citrate ซึ่งใช้เป็น reducing agent พบว่า เมื่อใช้ 1% Sodium citrate สารละลาย AuNPs ที่ได้ มีสีออกม่วงแดง และเมื่อนำมาวัด spectrum พบว่าเกิดพีกของอนุภาคทองคำขึ้นที่ $\lambda_{\max} = 533 \text{ nm}$ ซึ่งเป็นความยาวคลื่นที่สูงกว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นอื่นๆ แสดงให้เห็นว่า เมื่อใช้ 1% Sodium citrate จะได้อนุภาคที่มีขนาดใหญ่ที่สุด และเมื่อใช้ Sodium citrate ความเข้มข้นที่สูงขึ้น (1.2 – 1.8 %) พบว่าให้สารละลายอนุภาคทองคำที่มีสีแดง และมี λ_{\max} ที่ใกล้เคียงกัน แต่ที่ 1.2% Sodium citrate ให้พีก λ_{\max} ที่สูงที่สุด แสดงว่าเกิดอนุภาคที่มีขนาดเล็กได้มากที่สุด ดังนั้นจึงเลือกความเข้มข้น Sodium citrate ที่ 1.2%

ตารางที่ 4.2 สรุปสภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์อนุภาคทองจากทองคำเปลว

Parameters	Optimal condition
pH	2.0
PVA concentration	2.0 %
Sodium citrate concentration	1.2 %

4.5 การศึกษาความเสถียรของอนุภาคทองคำนาโนที่สังเคราะห์จากทองคำเปลว

ทำการศึกษาความเสถียรของอนุภาคทองคำนาโนที่สังเคราะห์จากแผ่นทองคำเปลว ภายใต้สภาวะเดียวกันจำนวน 2 วัน และนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงเพื่อดูความเสถียรของอนุภาคทองคำนาโน

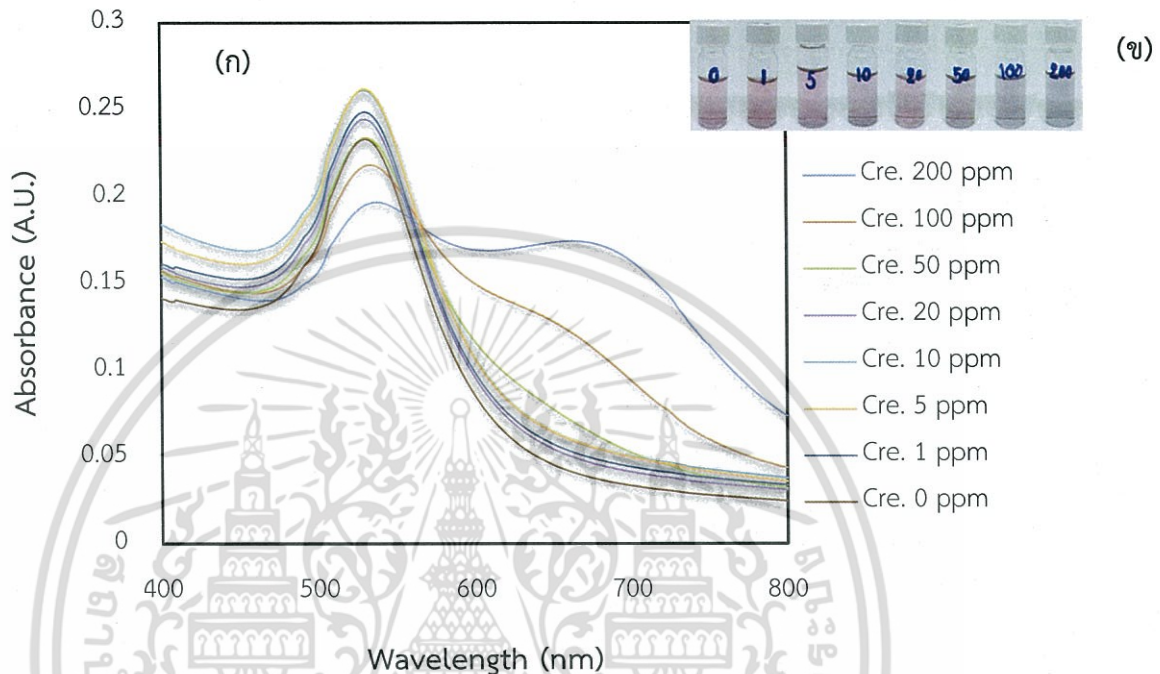


รูปที่ 4.13 (ก) กราฟแท่งแสดงความเสถียรของอนุภาคทองคำนาโนจากการสังเคราะห์ทองคำเปลววันที่ 5-5-60 และ (ข) กราฟแท่งแสดงความเสถียรของอนุภาคทองคำนาโนจากการสังเคราะห์ทองคำเปลววันที่ 8-5-60

จากรูปที่ 4.13 อนุภาคทองคำนาโนที่สังเคราะห์แล้วตั้งทิ้งนานจะทำให้ค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มมากขึ้นเมื่อเทียบกับวันที่สังเคราะห์ ดังนั้นอนุภาคทองคำนาโนที่สังเคราะห์จากทองคำเปลวจะเสถียรเมื่อตั้งทิ้งไว้นานหลายวัน

4.6 การใช้อนุภาคทองคำนาโนที่เตรียมจากแผ่นทองคำเปลวเป็นตัวตรวจวัดครีอะตินิน

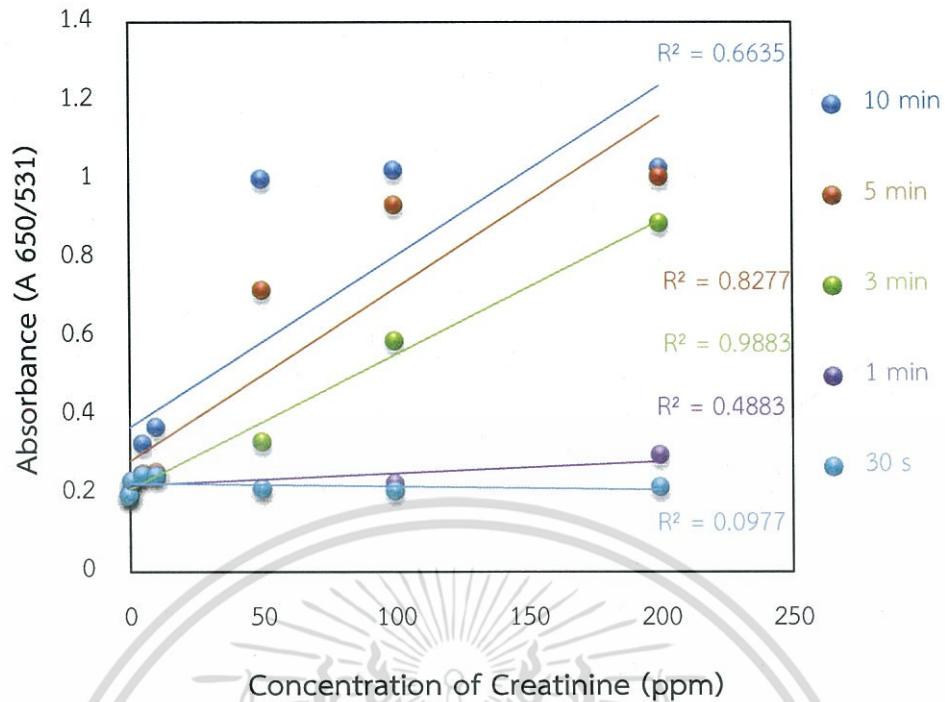
ได้ทำการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัดครีอะตินินด้วยอนุภาคทองคำระดับนาโนที่สังเคราะห์จากแผ่นทองคำเปลวภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ซึ่งได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.14



รูปที่ 4.14 (ก) สเปกตรัมการรวมตัวของอนุภาคทองคำนาโนกับครีอะตินินที่เวลาในการผสมที่ 3 นาที

(ข) รูปถ่ายของอนุภาคทองคำนาโนที่ทำปฏิกิริยากับครีอะตินินที่ความเข้มข้นต่างๆ

จากผลการทดลองรูปที่ 4.14 เมื่อทำการตรวจวัดครีอะตินินที่ความเข้มข้น 0, 1, 5, 10, 20, 50, 100 และ 200 ppm พบว่าเมื่อความเข้มข้นของครีอะตินินเพิ่มขึ้น สีของสารละลายจะเปลี่ยนจากแดงเป็นน้ำเงิน และทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร จะมีค่าสูงขึ้นตามลำดับความเข้มข้นของครีอะตินิน ซึ่งเกิดจากการรวมตัวกันกับอนุภาคทองคำนาโนเพิ่มขึ้น จากนั้นนำอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 ต่อ 531 นาโนเมตร ($A_{650/531}$) และความเข้มข้นของครีอะตินินมาสร้างกราฟมาตรฐาน โดยเปรียบเทียบผลการทดลองเมื่อทำการตรวจวัดตั้งแต่ 30 วินาที - 10 นาที พบว่าได้ผลการทดลอง ดังรูปที่ 4.14



รูปที่ 4.15 กราฟแสดงความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัดครีเอตินินด้วยอนุภาคทองคำนาโนที่สังเคราะห์ได้จากแผ่นทองคำเปลว

จากรูปที่ 4.15 เป็นการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัดครีเอตินินด้วยอนุภาคทองคำระดับนาโนที่สังเคราะห์จากแผ่นทองคำเปลวภายใต้สภาวะที่เหมาะสม พบว่าการตรวจวัดที่ 3 นาที สามารถสร้างกราฟเส้นตรงให้ครอบคลุมช่วงค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานครีเอตินินได้ทั้งหมด(0-200 ppm) ให้ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (r^2) เท่ากับ 0.9883 แต่เมื่อเวลาในการตรวจวัดเพิ่มขึ้นจะพบว่าช่วงความเป็นเส้นตรงจะแคบลงเรื่อยๆ

4.7 การศึกษาคุณลักษณะของวิธีตรวจวัดครีเอตินินด้วยอนุภาคทองคำนาโนที่เตรียมจากแผ่นทองคำเปลว

4.7.1 ความเที่ยงของการตรวจวัด

ทำการศึกษาความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ โดยทำการศึกษาที่ความเข้มข้นครีเอตินิน 1, 50 และ 200 ppm พบว่าได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 แสดงค่าสัมประสิทธิ์ความแปรผันที่ความเข้มข้น 1, 50 และ 200 ppm

Absorbance ratio of creatinine						
concentration	A 650/522					%RSD
	1	2	3	4	5	
1 ppm	0.1031	0.1152	0.1051	0.1086	0.1050	4.46
50 ppm	0.3398	0.3268	0.3265	0.3005	0.3093	4.87
200 ppm	1.1564	1.1557	1.2297	1.1538	1.1738	2.75

จากตารางที่ 4.3 ได้ทำการศึกษาส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของวิธีการตรวจวัด เมื่อทำการตรวจวัดสารมาตรฐานครีเอตินินที่ความเข้มข้น 1, 50, 200 ppm จำนวน 5 ครั้ง และทำการหาค่าสัมประสิทธิ์ความแปรผันของอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสง พบว่าค่าสัมประสิทธิ์ความแปรผันเท่ากับร้อยละ 4.46, 4.87, 2.75 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าไม่เกินร้อยละ 5 จึงจัดว่าวิธีวิเคราะห์นี้เป็นวิธีที่มีความเที่ยงอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

4.7.2 ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดและขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ

ได้ทำการคำนวณการคำนวณขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดและขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ โดยใช้สมการด้านล่างและได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.4

$$\text{LOD} = \frac{3 \text{ SD of Blank}}{\text{Slope}} \quad \text{and} \quad \text{LOQ} = \frac{10 \text{ SD of blank}}{\text{Slope}}$$

ตารางที่ 4.4 แสดงค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดและขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ

	Absorbance ratio			SD	LOD (ppm)	LOQ (ppm)
	1 st	2 nd	3 rd			
Blank	0.1022	0.1000	0.0985	0.005	3.57	11.90

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องจากสารละลายแบลลงค์มีสัญญาณจึงใช้สมการข้างต้นในการคำนวณหาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดและขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ จากตารางที่ 4.4 พบว่าค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเท่ากับ 3.57 ppm และขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณเท่ากับ 11.90 ppm

4.8 การศึกษาอัตราส่วนการเจือจางตัวอย่างปัสสาวะที่เหมาะสม

จากการศึกษาการเจือจางตัวอย่างปัสสาวะที่ไม่เจือจาง, เจือจาง 10, 50 และ 100 เท่า พบว่า ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 แสดงผลการเจือจางตัวอย่างปัสสาวะ

Dilution factor	Creatinine concentration (ppm)			Recovery(%)
	add	original	found	
Pure sample	200	N.D.*	N.D.*	-
Dilute 10 fold	200	N.D.*	N.D.*	-
Dilute 50 fold	200	N.D.*	N.D.*	-
Dilute 100 fold	200	N.D.*	N.D.*	-

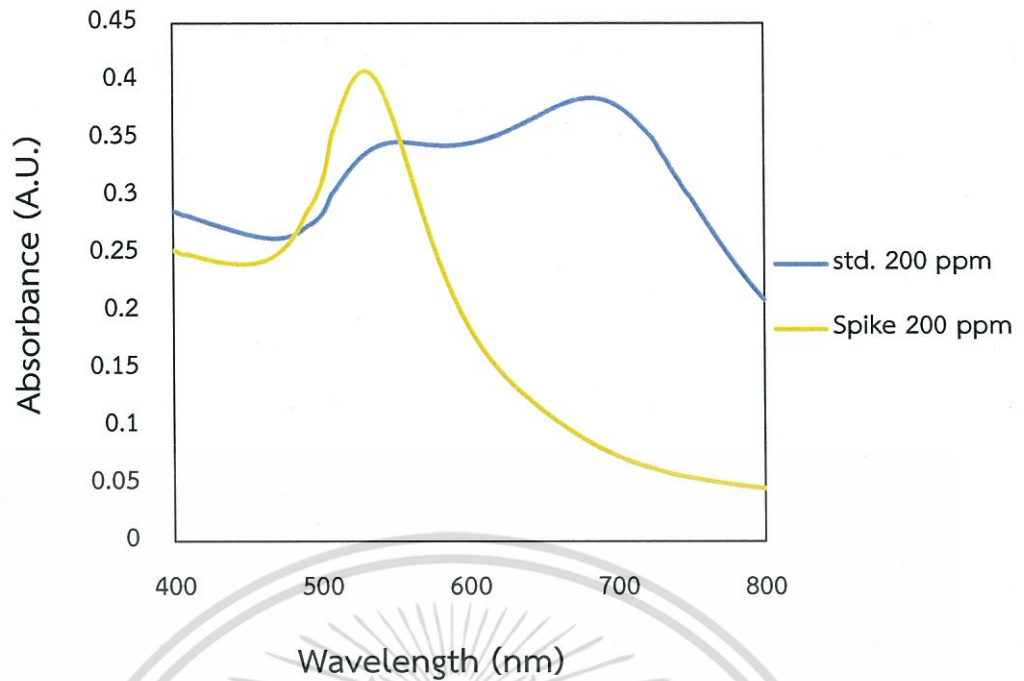
หมายเหตุ : N.D.* = ไม่สามารถตรวจวัดได้

จากตารางที่ 4.5 พบว่า ตัวอย่างปัสสาวะแต่ละตัวอย่างนั้นไม่สามารถหาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับได้ เนื่องจากตัวอย่างปัสสาวะอาจมีองค์ประกอบที่รบกวนบางตัวที่ส่งผลยับยั้งการเกิดการรวมตัวกันระหว่างระหว่างครีอะตินินกับอนุภาคทองนาโน จึงทำให้ไม่เกิดการรวมตัวกันไม่ว่าจะไม่ทำการเจือจางตัวอย่างปัสสาวะหรือทำการเจือจางตัวอย่างปัสสาวะที่ 100 เท่าผลที่ได้ก็ไม่เกิดการรวมตัวกัน

4.9 การตรวจวัดครีอะตินินในตัวอย่างปัสสาวะด้วยอนุภาคทองนาโนที่เตรียมจากทองคำเปลว

ได้ทำการศึกษาการตรวจวัดครีอะตินินในตัวอย่างปัสสาวะด้วยอนุภาคทองนาโนที่เตรียมจากทองคำเปลว โดยทำการศึกษาที่ 200 ppm และเปรียบผลการทดลองกับสารละลายมาตรฐานมาตรฐานครีอะตินิน ได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.16 สเปกตรัมการรวมตัวของสารรวมตัวกันของอนุภาคทองคำกับครีอะตินินที่ 200 ppm

จากรูปที่ 4.16 เมื่อทำการตรวจวัดครีอะตินินในตัวอย่างปัสสาวะพบว่าไม่เกิดการรวมตัวกันของครีอะตินินกับอนุภาคทองคำ (—) เมื่อเทียบกับผลที่ใช้สารละลายมาตรฐานครีอะตินินจะเห็นว่าเกิดการรวมตัวกัน (—) ที่ผลการหาครีอะตินินในตัวอย่างปัสสาวะไม่เกิดการรวมตัวอาจเป็นผลมาจากตัวรบกวนบางตัวอย่างในปัสสาวะยับยั้งการเกิดการรวมตัวกัน

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาการตรวจวัดครีอะตินินโดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยาการรวมตัวกันของอนุภาคทองคำ โดยเริ่มจากการสังเคราะห์อนุภาคทองคำระดับนาโนจากแผ่นทองคำเปลวด้วยวิธีเทอร์คีวิช (Terkevich method) โดยใช้ไตรโซเดียมซิเตรทเป็นสารลดขนาดและใช้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์เป็นตัวรักษาเสถียรภาพของอนุภาคทองคำให้อยู่ในระดับนาโนเมตร และได้ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์อนุภาคทองคำจากแผ่นทองคำเปลว ได้แบ่งขั้นตอนการดำเนินงานออกเป็น 2 ขั้นตอนหลักดังต่อไปนี้ ขั้นตอนหนึ่ง คือ ทำการศึกษาอิทธิพลที่ส่งผลต่อการละลายแผ่นทองคำเปลว จากนั้นทำการศึกษาอิทธิพลที่ส่งผลต่อการสังเคราะห์อนุภาคทองคำ ขั้นตอนที่สอง ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดครีอะตินิน

จากการสังเคราะห์อนุภาคทองคำระดับนาโนด้วยแผ่นทองคำเปลวได้สารละลายสีไวน์แดง เมื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 400-800 นาโนเมตร พบว่ามีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดอยู่ที่ 531 นาโนเมตรและค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของการตรวจวัดครีอะตินินอยู่ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร

สภาวะในการสังเคราะห์อนุภาคทองคำที่เหมาะสมคือ ความเข้มข้นกรดกัดทอง 80% ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และเวลาในการละลาย 30 นาที สามารถละลายแผ่นทองคำเปลวได้มากกว่า 90% จากนั้นทำการศึกษาอิทธิพลที่ส่งผลต่อการสังเคราะห์อนุภาคทองคำ พบว่า พีเอชที่เหมาะสมเท่ากับ 2 ความเข้มข้น 2% ของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ และความเข้มข้น 1.2% ของไตรโซเดียมซิเตรทคือสภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์อนุภาคทองคำ เนื่องจากสารละลายที่สังเคราะห์ได้มีสีแดงไวน์ เมื่อทำการตั้งทิ้งไว้ 24 ชม. สารละลายไม่เกิดการตกตะกอน

สภาวะในการทดลองที่เหมาะสมคือ พีเอชที่เหมาะสมเท่ากับ 6 และระยะเวลาที่ใช้ในการตรวจวัดเท่ากับ 3 นาที พบว่า อนุภาคทองคำสามารถเกิดปฏิกิริยาการรวมตัวกันกับครีอะตินินได้ โดยสีของสารละลายจะเปลี่ยนจาก สีแดงไวน์ไปเป็นสีน้ำเงินโดยสีเข้มขึ้นตามความเข้มข้นของครีอะตินินที่เพิ่มขึ้น ทำการสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนค่าดูดกลืนแสงโดยมีช่วงความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัดครีอะตินินในช่วง 1-200 ppm มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเท่ากับ 0.9883 มีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ร้อยละที่ความเข้มข้น 1, 5 และ 200 ppm เท่ากับ 4.46, 4.87 และ 2.75 ตามลำดับ มีขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด และขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ เท่ากับ 3.57 และ 11.90 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อนำวิธีนี้มาประยุกต์ใช้ตรวจวัดปริมาณครีโอดีนินในปัสสาวะ พบว่า อนุภาคทองคำนาโนไม่สามารถเกิดการรวมตัวกับครีโอดีนินในปัสสาวะได้ ดังนั้นต้องทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างต่อไปในอนาคต

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรแช่เครื่องแก้วด้วยกรดไนตริก และล้างด้วยน้ำปราศจากไอออนทุกครั้งก่อนนำมาทดลอง เพื่อลดตัวรบกวนอื่นๆ
2. ในการทดลองควรมีการควบคุมเวลาในแต่ละขั้นตอน เช่นการสังเคราะห์ของอนุภาคทองระดับนาโน เวลาในการทำปฏิกิริยา
3. ควรวัดค่าพีเอชของน้ำปราศจากไอออนทุกครั้งก่อนทำการทดลอง และของอนุภาคทองระดับนาโนทุกครั้งหลังจากสังเคราะห์เสร็จ ควรเก็บในขวดสีชา และเก็บใส่ตู้เย็นก่อนนำมาใช้ หรืออาจสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนคราวละหลายๆเพื่อที่ทำการทดลองครั้งต่อไปจะไม่เป็นการเสียเวลาในการสังเคราะห์ใหม่ และสามารถลดความคาดเคลื่อนจากการสังเคราะห์แต่ละครั้งได้อีกด้วย
4. ก่อนทำการทดลองควรนำสารเคมีมาวางทิ้งไว้ให้อยู่ในอุณหภูมิห้องทุกครั้ง
5. ก่อนทำการทดลองควรวัดค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองคำนาโนก่อนนำมาใช้ในการทดลอง เพื่อตรวจสอบความใช้ได้ของสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- [1] ศูนย์จัดการข้อมูลและวิเคราะห์ทางสถิติ คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 2560. โรคไตเรื้อรัง. [Online]. Available : <https://www.ckdnet.org/site/index?id=9>.
- [2] เม็งรายแล็บ. 2560. วิธีการเก็บสิ่งส่งตรวจ. [Online]. Available : <http://www.mengrailab.com>.
- [3] สารานุกรมไทยฉบับเยาวชน. 2560. บทบาทและหน้าที่ของไต. [Online]. Available : <http://kanchanapisek.or.th/kp6/sub/book/book.php?book=infodetail01.html>.
- [4] ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์. 2560. การตรวจวัดครีเอตินิน. [Online]. Available : <https://kku.ac.th/chuare/4/creatininedetermination>.
- [5] Kwanrutai, T. Julaluk, N. Temsiri, S. Orawan, C. and Wanida, L. 2015. "A facile low-cost enzymatic paper-based for the determination of urine creatinine." *Talanta*. 144 : 915-921
- [6] Yi, H. Xianhui, Z. และ Haili, Yu. 2015. "Gold nanoparticles-based colorimetric and visual creatinine assay." *Microchim Acta*. 182 : 2037-2043.
- [7] ถิ่นเหนือนิวส์ ออนไลน์. 2560. นาโนวัสดุ. [Online]. Available : <https://sites.google.com/site/thinnuanews/นาโนวัสดุ>.
- [8] วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. 2560. อนุภาคนาโนทอง. [Online]. Available : <http://www.tcithaijo.org/index.php/scimsujournal/article/view/19232/16917>.
- [9] ฐานข้อมูลความปลอดภัยวัสดุ. 2560. อนุภาคทองระดับนาโน. [Online]. Available : http://web.eng.nu.ac.th/eng2012/cei/nanodatabase/info_index.php.
- [10] Roberto, D.R. 2560. สีของสารละลายอนุภาคทอง. [Online]. Available : <http://www.nature.com/nnano/journal/v7/n12/full/nnano.2012.186.html>.
- [11] Cytodiagnosics. 2560. ทฤษฎีเซอรั่มเฟส พลาสมอน เรโซแนนซ์. [Online]. Available : <https://www.cytodiagnosics.com/store/pc/support.asp>.
- [12] University of Waterloo. 2560. การเกิดเซอรั่มเฟส พลาสมอน เรโซแนนซ์. [Online]. Available : <https://uwaterloo.ca/research/>.
- [13] ไม่ปรากฏชื่อ. ไม่ปรากฏปีที่พิมพ์. ขั้นตอนการผลิต. [Online]. Available : <http://www.ayothayagoldleaf.com/index.php?mode=process&lang=>.
- [14] ศราวุท แสงอุไร. 2560. UV-Vis Spectrophotometer. [Online]. Available : <http://www.mwit.ac.th/~sarawoot/chem40235.htm>.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- [15] สสวท. กระทรวงศึกษาธิการ. 2533. สเปกตรัมคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า. [Online]. Available : <https://web.ku.ac.th/schoolnet/snet3/saowalak/spectrum/spectrum>.
- [16] จินดาพร บุญวัฒนา. 2560. UV-Visible spectrophotometer. [Online]. Available : <http://web2.mfu.ac.th/center/stic/spectroscopy-chem-analysis-instrument/item/140-uv-visible-spectrophotometer.html>.
- [17] Glassware Chemical. 2560. ส่วนประกอบของเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์. [Online]. Available : <http://glasswarechemical.com/scientific-instrument/uv-vis-spectrophotometer/>.
- [18] หน่วยบริการนวัตกรรมทางวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา. 2560. แผนภาพเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์. [Online]. Available : <http://science.buu.ac.th/part/sifbuu/index.php/laboratory-instruments.html?showall=&start=1>.
- [19] สถาบันนวัตกรรมและพัฒนาระบบการเรียนรู้ มหาวิทยาลัยมหิดล. 2560. แหล่งกำเนิดแสง. [Online]. Available : http://www.il.mahidol.ac.th/e-media/color-light/page4_2.html.
- [20] Trans Continental Medical Products Limited. 2560. Spectrophotometer cuvettes. [Online]. Available : <http://www.transcontinentalmedicalproducts.com/product/spectrophotometer-cuvettes/>.
- [21] ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 2560. แผนภาพสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่มีไดโอดอาร์เรย์เป็นตัวตรวจจับสัญญาณ. [Online]. Available : www.psu.ac.th/blog/science-equipment/1031.
- [22] Wang, X. Guo, X.Q. 2009. "Ultrasensitive Pb²⁺ detection based on fluorescence resonance energy transfer (FRET) between quantum dots and goldnanoparticles". Analyst. 134 : 1348 - 1354.
- [23] Jarinya, S. Fuangfa, U. 2015. "Detection of urinary creatinine using gold nano particles after solid phase extraction." Spectrochimica Acta. 138 : 381-386.
- [24] Yi, H. Hua, C. 2013. "Label free and homogeneous histone sensing based on chemiluminescence resonance energy transfer between lucigenin and gold nanoparticles". Biosensors and Bioelectronics. 47 : 313-317.
- [25] Ambrose, R.T. Ketchum, D.F. and Smith, J.W. 1983. "Creatinine Determined by "High-Performance" Liquid Chromatography." CLINICAL CHEMISTRY. 29 (2) : 256-259.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- [26] Hong, C. Bianhua, L. Guijian, G. Zhongping, Z. and Ming-Yong, H. 2010.
“A simple, reliable and sensitive colorimetric visualization of
melamine in milk by unmodified gold nanoparticles” Analyst.
135 : 1070-1075.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ตารางที่ ก.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการศึกษาปริมาตรกรดกัดทอง

Volume (mL)	Absorbance			Avr	SD
	1	2	3		
5	0.465	0.456	0.460	0.460	0.0046
10	0.468	0.468	0.466	0.467	0.0013
15	0.467	0.470	0.470	0.469	0.0018
20	0.463	0.467	0.471	0.467	0.0043

Volume (mL)	Concentration (mM)			Avr	SD	Dilution factor (x50)	ทฤษฎี	% Yield
	1	2	3					
5	0.19	0.18	0.18	0.18	0.0016	9.18	9.36	98.1
10	0.19	0.19	0.19	0.19	0.0005	9.30	9.38	99.2
15	0.19	0.19	0.19	0.19	0.0007	9.34	9.45	98.8
20	0.18	0.19	0.19	0.19	0.0015	9.30	9.40	99.0

ตารางที่ ก.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการศึกษาความเข้มข้นกรดกัดทอง

Conc. (% v/v)	Absorbance			Avr	SD
	1	2	3		
20	0.292	0.306	0.317	0.305	0.0125
40	0.366	0.366	0.370	0.367	0.0021
50	0.413	0.414	0.414	0.414	0.0010
60	0.408	0.406	0.406	0.407	0.0014
70	0.429	0.428	0.428	0.428	0.0005
80	0.434	0.422	0.425	0.427	0.0062
90	0.427	0.430	0.428	0.428	0.0013
100	0.435	0.436	0.437	0.436	0.0010

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Conc. (% v/v)	Concentration (mM)			Avr	SD	Dilution factor (x50)	ทฤษฎี	% Yield
	1	2	3					
20	0.12	0.13	0.13	0.13	0.0045	6.40	7.80	82.0
40	0.15	0.15	0.15	0.15	0.0008	7.51	8.61	87.3
50	0.17	0.17	0.17	0.17	0.0003	8.34	9.23	90.4
60	0.16	0.16	0.16	0.16	0.0005	8.22	9.14	89.9
70	0.17	0.17	0.17	0.17	0.0002	8.61	9.39	91.7
80	0.17	0.17	0.17	0.17	0.0022	8.58	9.61	89.3
90	0.17	0.17	0.17	0.17	0.0005	8.60	9.55	90.1
100	0.17	0.17	0.18	0.17	0.0004	8.75	9.59	91.2

ตารางที่ ก.3 แสดงค่าการดูดกลืนแสงและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการศึกษาเวลาที่ใช้ในการละลายทองคำเปลว

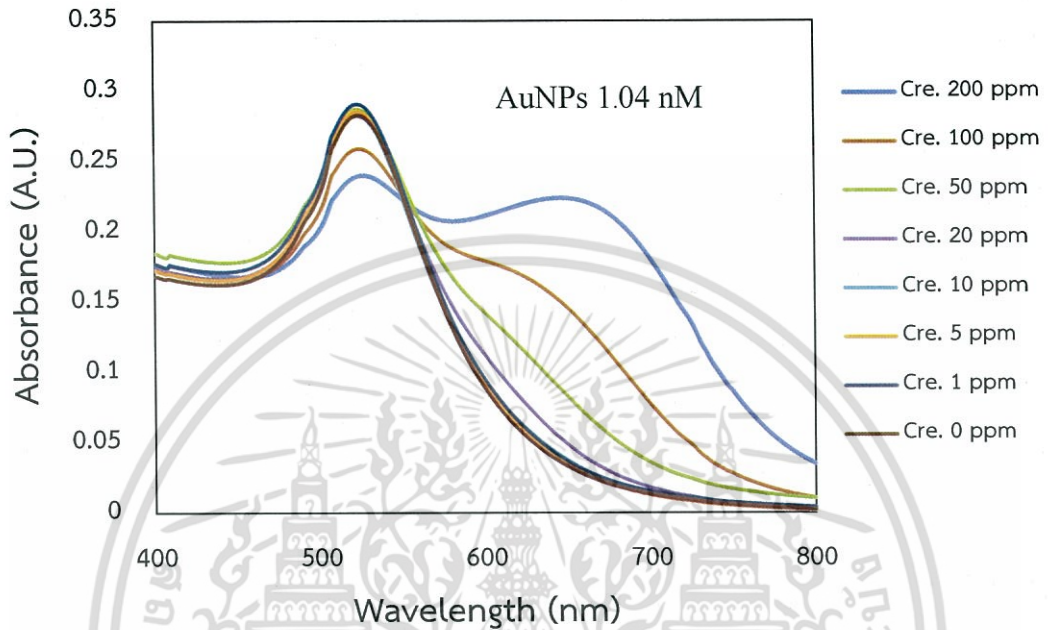
Time (min)	Absorbance			Avr	SD
	1	2	3		
10	0.342	0.333	0.359	0.345	0.0129
20	0.409	0.387	0.370	0.389	0.0194
30	0.408	0.406	0.410	0.408	0.0023
40	0.400	0.398	0.400	0.399	0.0008
50	0.399	0.398	0.399	0.398	0.0007
60	0.401	0.399	0.401	0.401	0.0013

Conc. (% v/v)	Concentration (mM)			Avr	SD	Dilution factor (x50)	ทฤษฎี	% Yield
	1	2	3					
20	0.14	0.14	0.15	0.14	0.0046	7.11	8.69	81.8
40	0.17	0.16	0.15	0.16	0.0069	7.89	9.02	87.5
50	0.16	0.16	0.17	0.16	0.0008	8.24	9.21	89.5
60	0.16	0.16	0.16	0.16	0.0003	8.09	9.27	87.2
70	0.16	0.16	0.16	0.16	0.0003	8.07	9.18	87.9
80	0.16	0.16	0.16	0.16	0.0005	8.11	9.43	86.0

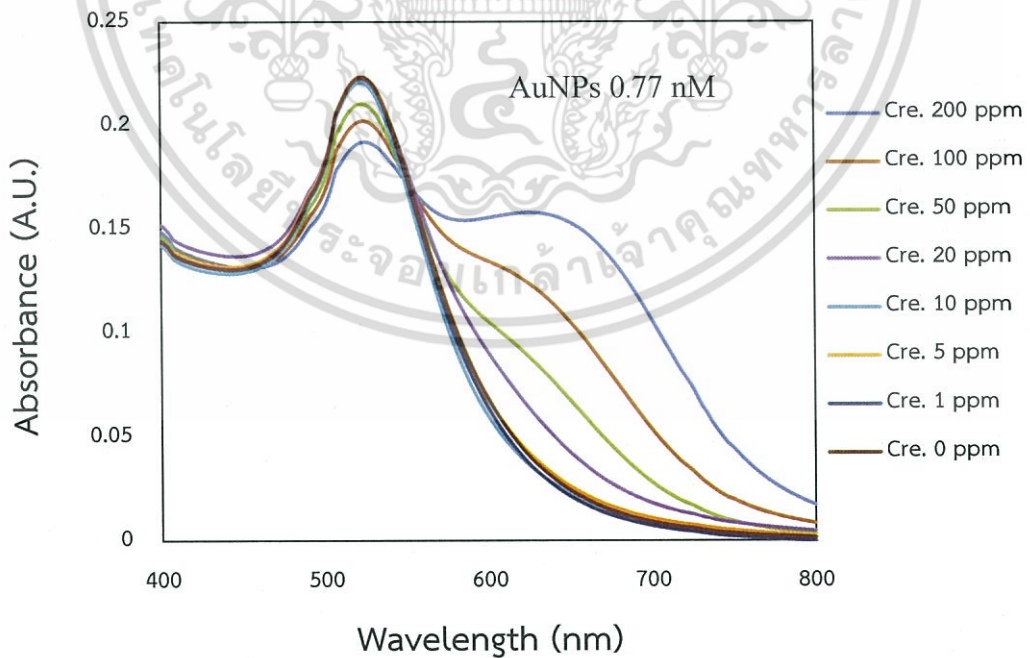
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ผลการศึกษาความเข้มข้นอนุภาคทองคำที่เหมาะสมในการตรวจวัด

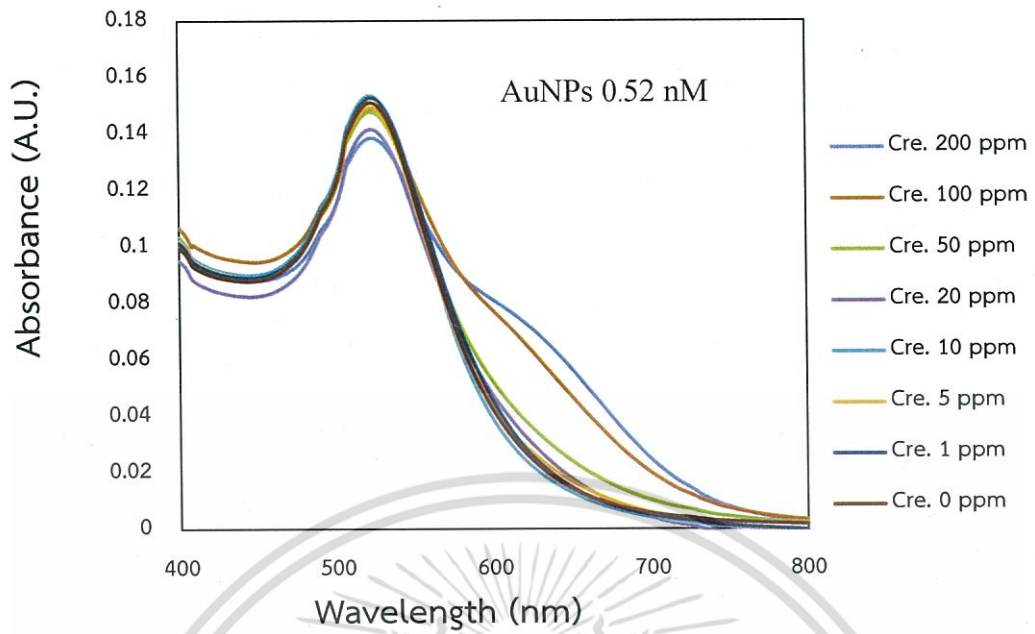


รูปที่ ข.1 สเปกตรัมการรวมตัวกันของครีอะตินีนกับอนุภาคทองคำที่ความเข้มข้น 1.04 นาโนโมลาร์



รูปที่ ข.2 สเปกตรัมการรวมตัวกันของครีอะตินีนกับอนุภาคทองคำที่ความเข้มข้น 0.77 นาโนโมลาร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



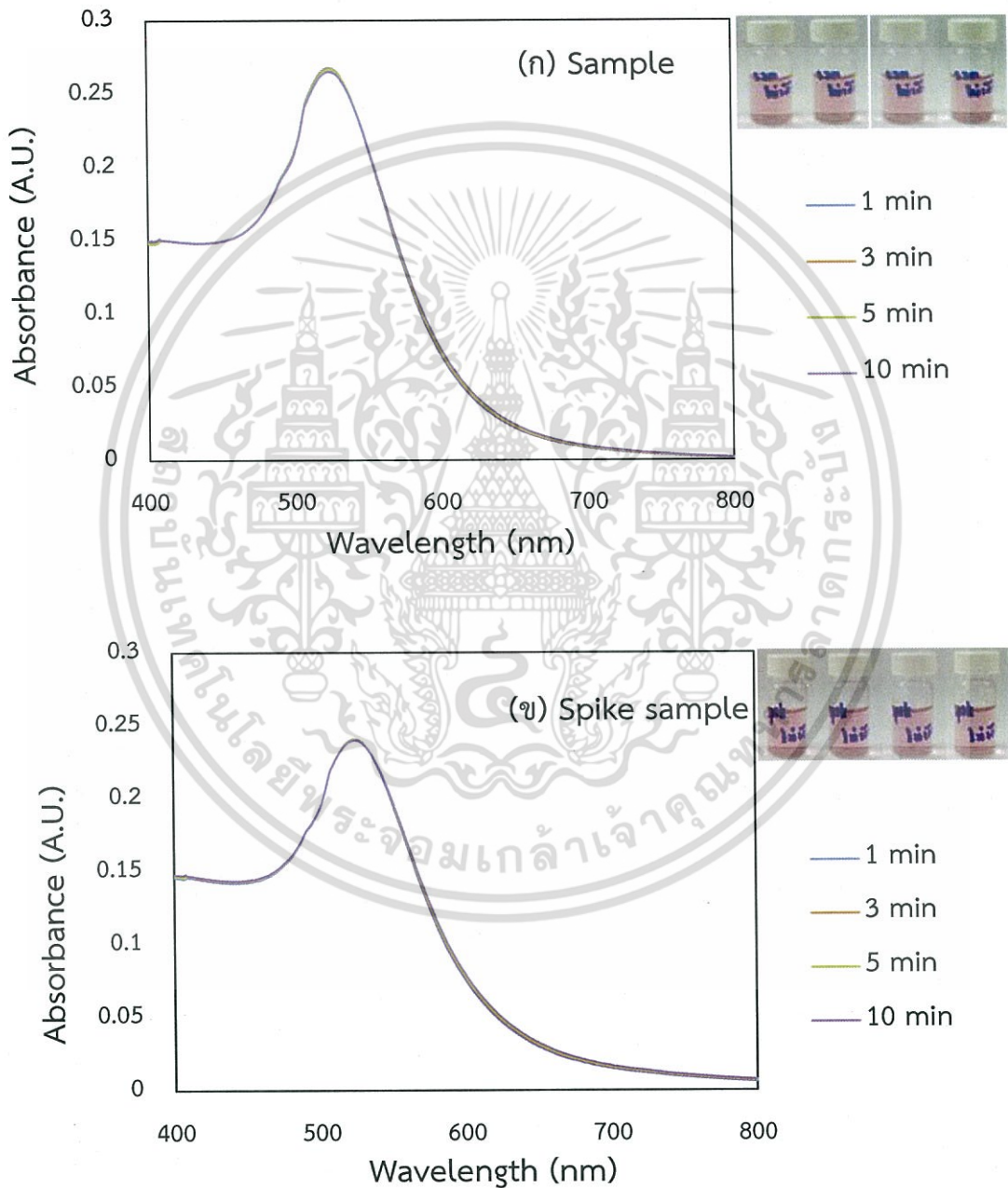
รูปที่ ข.3 สเปกตรัมการรวมตัวกันของครีอะตินีนกับอนุภาคทองที่มีความเข้มข้น 0.52 นาโนโมลาร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

ผลการเจือจางตัวอย่างปัสสาวะ

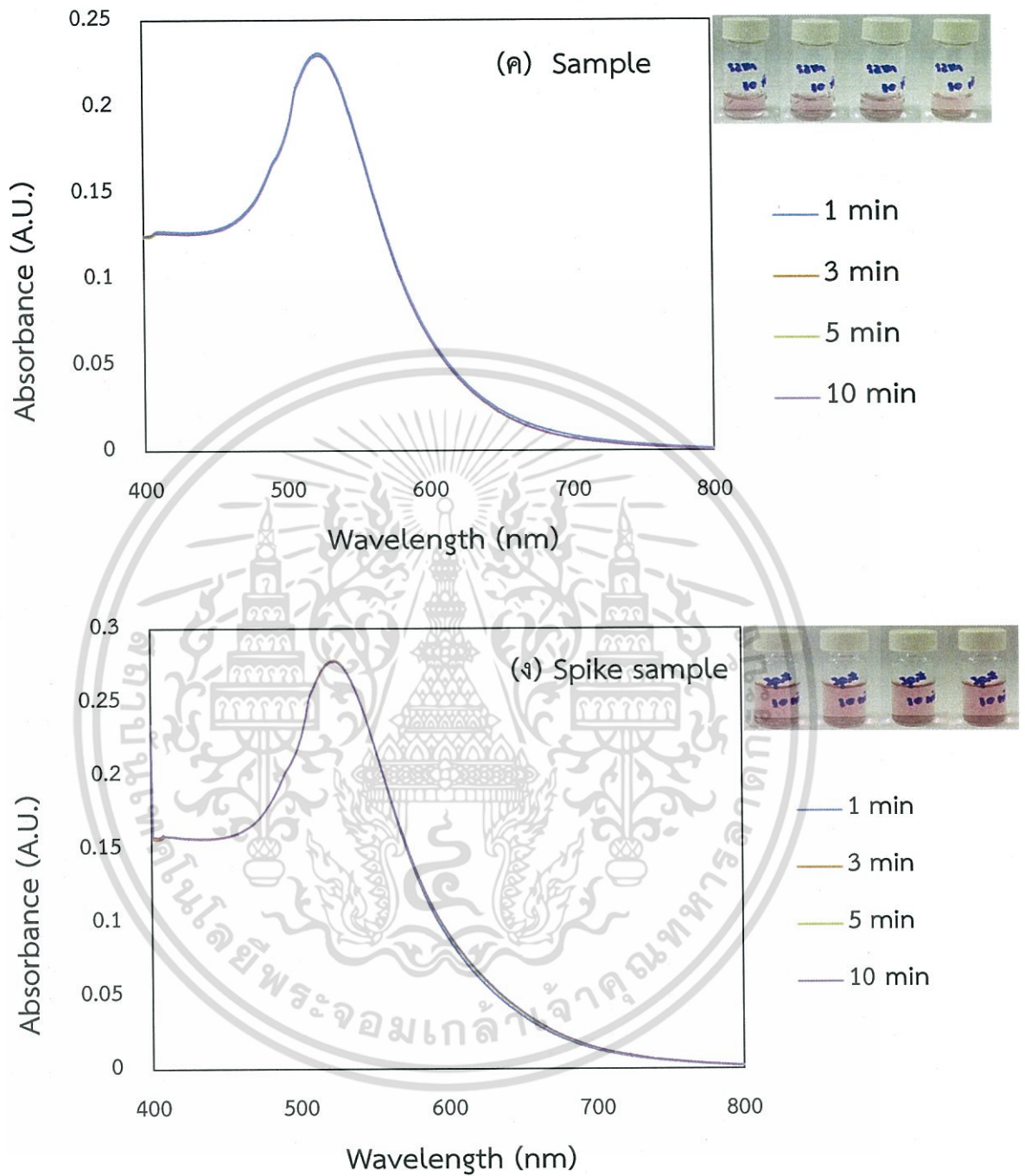
Non dilute



รูปที่ ค.1 กราฟแสดงสเปกตรัมการรวมตัวของ AuNPs กับ Creatinine โดยที่ (ก) คือ sample และ (ข) คือ spike sample

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

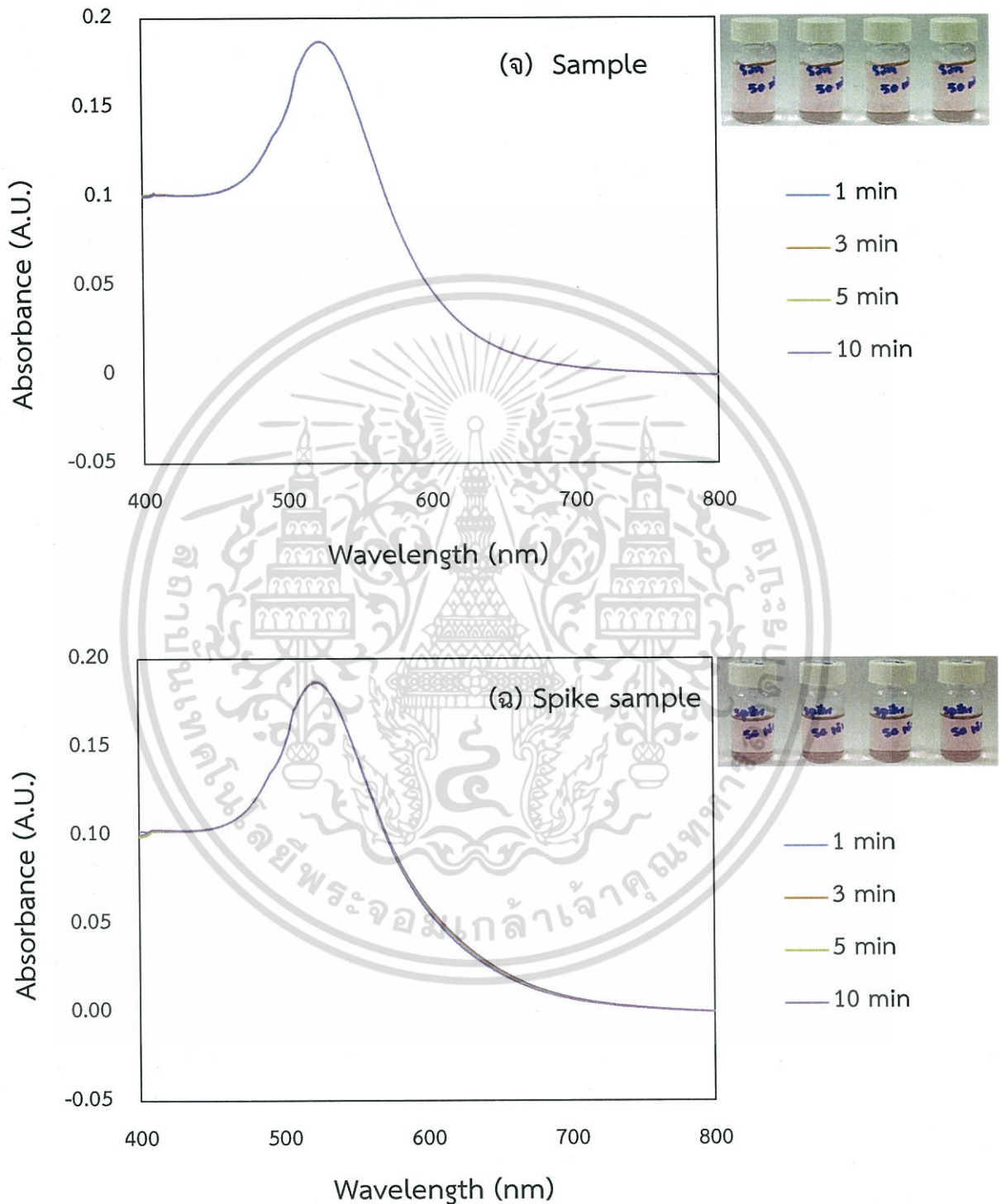
Dilute 10 fold



รูปที่ ค.2 กราฟแสดงสเปกตรัมการรวมตัวของ AuNPs กับ Creatinine โดยที่ (ค) คือ sample และ (ง) คือ spike sample

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

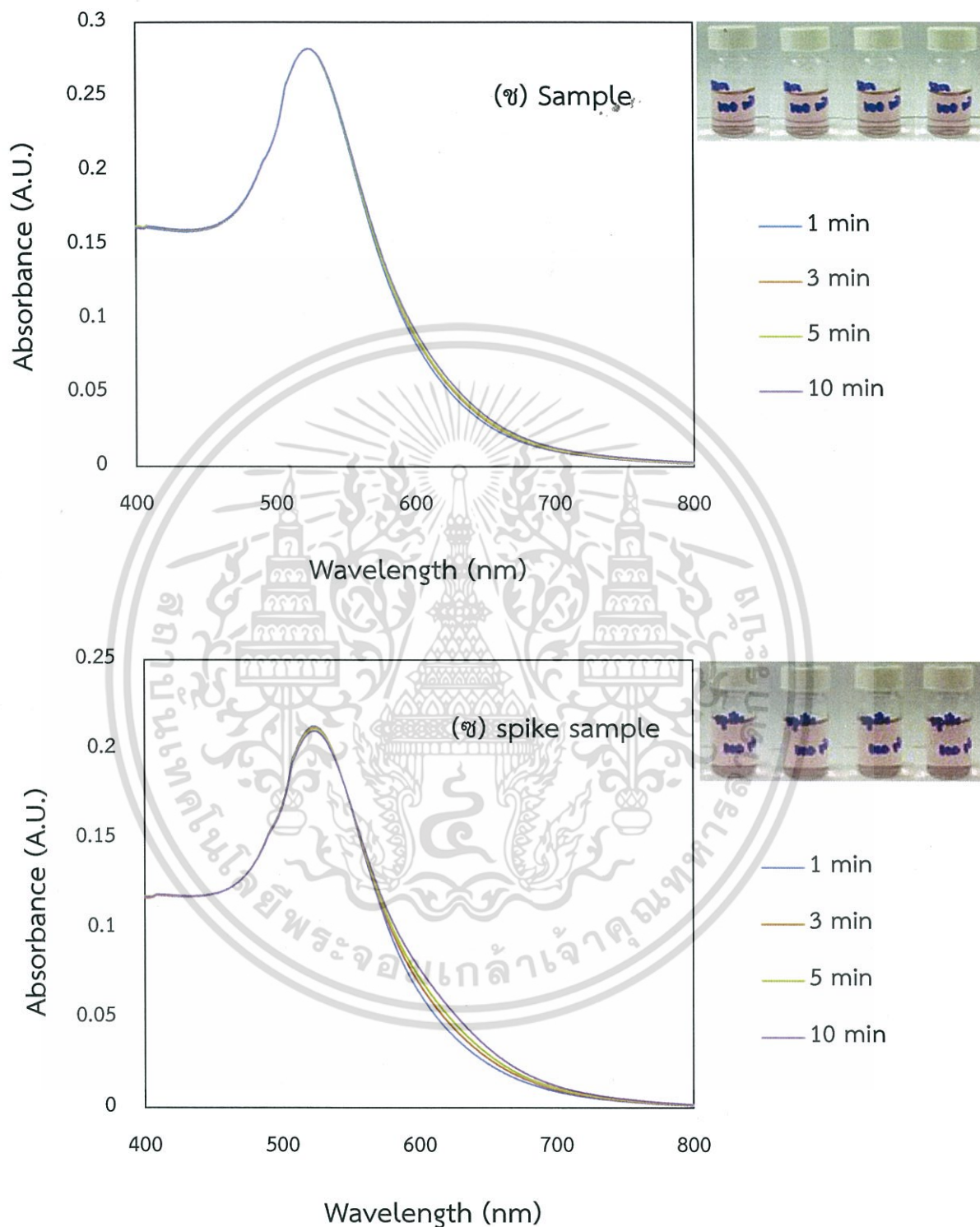
Dilute 50 fold



รูปที่ ค.3 กราฟแสดงสเปกตรัมการรวมตัวของ AuNPs กับ Creatinine โดยที่ (จ) คือ sample และ (ฉ) คือ spike sample

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Dilute 100 fold



รูปที่ ค.4 กราฟแสดงสเปกตรัมการรวมตัวของ AuNPs กับ Creatinine โดยที่ (ข) คือ sample และ (ง) คือ spike sample

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

