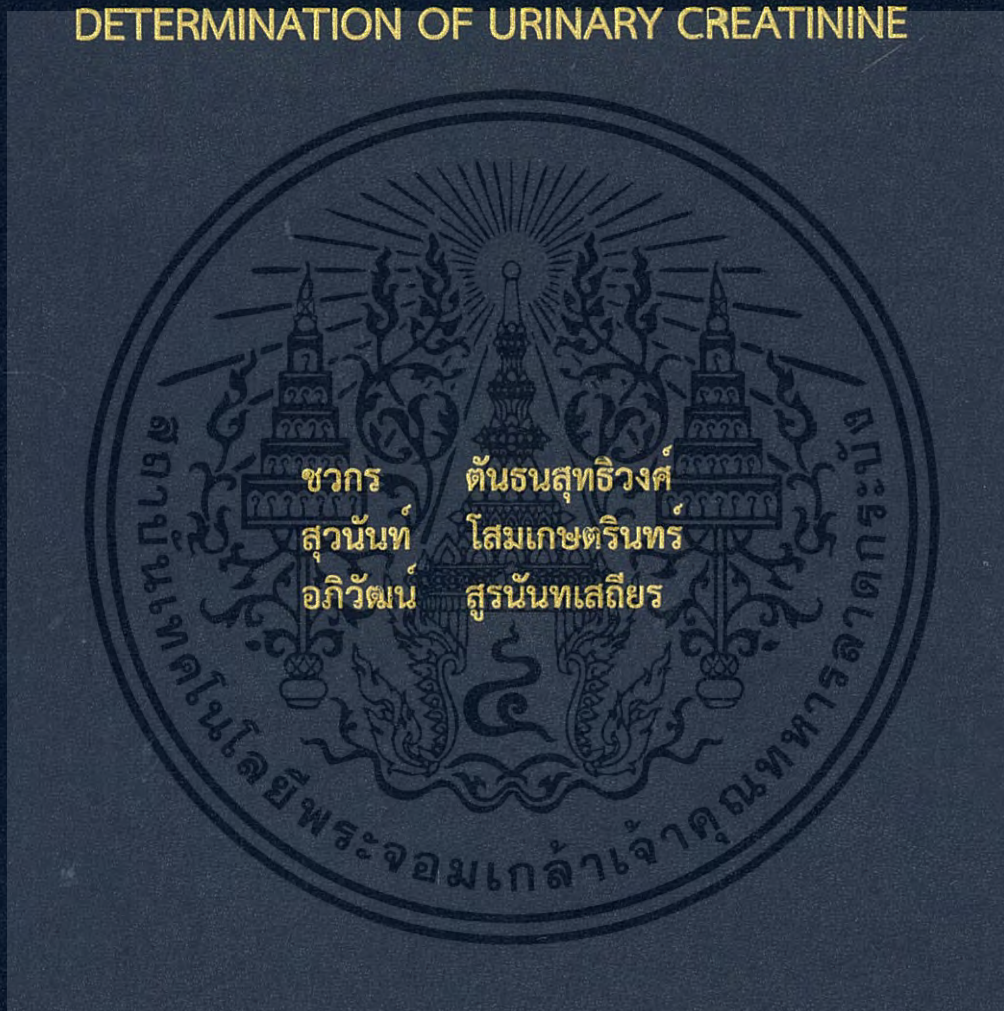


อุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษที่ตรึงอนุภาคทองคำนาโนสำหรับ  
หาปริมาณครีอะตินินในปัสสาวะโดยอาศัยหลักการตรวจวัดทางสี

IMMOBILIZED-GOLD NANOPARTICLES  
PAPER-BASED ANALYTICAL DEVICE FOR COLORIMETRIC  
DETERMINATION OF URINARY CREATININE



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)  
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ปีการศึกษา 2560

อุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษที่ตรึงอนุภาคทองคำโนสำหรับ  
หาปริมาณครีอะตินินในปัสสาวะโดยอาศัยหลักการตรวจวัดทางสี

IMMOBILIZED-GOLD NANOPARTICLES  
PAPER-BASED ANALYTICAL DEVICE FOR COLORIMETRIC  
DETERMINATION OF URINARY CREATININE



ชวกร ดันธนสุทธีวงศ์  
สุนันท์ โสเมษตรินทร์  
อภิวัฒน์ สุรนันทเสถียร

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา

วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2560

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

IMMOBILIZED-GOLD NANOPARTICLES  
PAPER-BASED ANALYTICAL DEVICE FOR COLORIMETRIC  
DETERMINATION OF URINARY CREATININE



CHAVAKORN TONTHANASUTTHIVONG  
SUWANAN SOMMAKETTARIN  
APIWAT SURANANTHASATIAN

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 2017

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**หัวข้อโครงการพิเศษ**

อุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษที่ตรึงอนุภาคทองคำนาโนสำหรับ  
หาปริมาณครีเอตินินในปัสสาวะโดยอาศัยหลักการตรวจวัดทางสี  
Immobilized - Gold Nanoparticles Paper - Based  
Analytical Device for Colorimetric Determination  
of Urinary Creatinine

**ชื่อนักศึกษา**

นายชวกร ตันธนสุทธีวงศ์ รหัสนักศึกษา 57050397  
นางสาวสุนันท์ โสมเกษตรินทร์ รหัสนักศึกษา 57050545  
นายอภิวัฒน์ สุรนนท์เสถียร รหัสนักศึกษา 57050552

**ปริญญา**

วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)

**ภาควิชา**

เคมี

**ปีการศึกษา**

2560

**อาจารย์ที่ปรึกษา**

ผศ.ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชั้น

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้  
โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต  
(เคมีอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2560

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

**ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์**

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	อุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษที่ตรึงอนุภาคทองคำนาโนสำหรับ		
	หาปริมาณครีอะตินินในปัสสาวะอาศัยหลักการตรวจวัดทางสี		
ชื่อนักศึกษา	นายชวกร	ตันธนสุทวิชต์	รหัสนักศึกษา 57050397
	นางสาวสุนันท์	โสมเกษทรินทร์	รหัสนักศึกษา 57050545
	นายอภิวัฒน์	สุรนนทเสถียร	รหัสนักศึกษา 57050552
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)		
ภาควิชา	เคมี		
คณะ	วิทยาศาสตร์		
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)		
ปีการศึกษา	2560		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.ณัฐวุฒิ เจริญชัย		

### บทคัดย่อ

โครงการวิจัยนี้ ได้พัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษที่ตรึงอนุภาคทองคำนาโนสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณครีอะตินินในปัสสาวะ การตรวจวัดจะอาศัยการเกิดอันตรกิริยาระหว่างครีอะตินินกับอนุภาคทองคำนาโน อุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ เตรียมได้โดยทำการตรึงอนุภาคทองคำนาโนบนกระดาษกรองและใช้สารละลายโพลีไวนิลแอลกอฮอล์เป็นตัวรักษาเสถียรภาพ เมื่อนำไปตรวจวัดครีอะตินิน อนุภาคทองคำนาโนจะเกิดการรวมตัวกัน ส่งผลให้อนุภาคทองคำนาโนที่ถูกตรึงบนอุปกรณ์ตรวจวัดเปลี่ยนสีจากแดงไปเป็นม่วง และทำการถ่ายรูปสีของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นโดยใช้กล้องโทรศัพท์มือถือ และใช้โปรแกรมอิมเมจเจในการหาค่าความเข้มสี ซึ่งวิธีที่พัฒนานี้สามารถตรวจวัดครีอะตินินได้ในช่วงความเข้มข้น 0 – 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ( $\text{Color intensity} = -0.0098 [\text{Creatinine}] + 156.48$ ) มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ ( $r^2$ ) เท่ากับ 0.965 จากนั้นได้ประยุกต์ใช้หาปริมาณครีอะตินินในปัสสาวะ พบว่า ค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ (% Recovery) อยู่ในช่วงร้อยละ 90 ถึง 107 ข้อดีของวิธีนี้คือ ทำได้สะดวก และง่ายต่อการใช้งาน อีกทั้งยังมีความเที่ยงและความแม่นยำ อยู่ในเกณฑ์ที่น่าพอใจ

**คำสำคัญ:** อุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ อนุภาคทองคำนาโน ครีอะตินิน ปัสสาวะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<b>Title</b>	Immobilized-Gold Nanoparticles Paper-Based Analytical Device for Colorimetric Determination of Urinary Creatinine
<b>Students</b>	Mr. Chavakorn Tonthanasuttivong Student ID 57050397 Miss Suwanan Sommakettarin Student ID 57050545 Mr. Apiwat Suranantsatian Student ID 57050552
<b>Degree</b>	Bachelor of Science (Industrial Chemistry)
<b>Department</b>	Chemistry
<b>Faculty</b>	Science
<b>University</b>	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
<b>Academic Year</b>	2017
<b>Advisor</b>	Asst. Prof. Dr. Nathawut Choengchan

### Abstract

In this work, the gold nanoparticles (AuNPs) were immobilized onto a paper-based analytical device for colorimetric determination of creatinine in urine. Poly-vinyl-alcohol was used as stabilizer. Detection principle is based on interaction between creatinine and gold nanoparticles (AuNPs). In the presence of creatinine, the aggregation of AuNPs was occurred and the color of the immobilized-AuNPs was changed from red-wine to purple. Optical images of the device was captured by a digital camera of the mobile phone and was measured the color intensity by Image J program. The working range from 0 – 500 mg/L creatinine (Color intensity =  $-0.0098 [\text{Creatinine}] + 156.48$ ) with good linearity ( $r^2 = 0.965$ ) was obtained. The method was applied to urine sample. Recoveries were found from 90 to 107 %. The advantages of the method are simple and easy-to-use. In addition, the developed method also provided the satisfied precision and accuracy.

**Keywords:** Paper-based analytical device, Gold nanoparticles, Creatinine, Urine

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษเรื่องนี้ สำเร็จได้ด้วยดีเพราะได้รับคำแนะนำต่างๆ จาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชั้น อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ อีกทั้งยังช่วยตรวจทานโครงการพิเศษฉบับนี้จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ซึ่งทางคณะผู้จัดทำขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เสาวภาคย์ ธีราทรง ที่กรุณาเป็นกรรมการสอบโครงการพิเศษในครั้งนี้ ตลอดจนให้คำแนะนำในการแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ เพื่อให้โครงการพิเศษฉบับนี้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ หน่วยวิจัยเคมีวิเคราะห์เชิงประยุกต์ และขอขอบพระคุณคณาจารย์เจ้าหน้าที่ทุกท่านในภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ขอขอบพระคุณ คุณอาจณรงค์ เมธาวีสรรเสริญ ตลอดจนนักศึกษาปริญญาโทและปริญญาเอกทุกท่านในหน่วยวิจัยเคมีวิเคราะห์เชิงประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ ที่คอยให้คำปรึกษา ชี้แนะแนวทางในการดำเนินงานตั้งแต่เริ่มต้นจนกระทั่งการดำเนินงานสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณบิดา มารดา ที่เป็นกำลังใจ และให้การสนับสนุนทางด้านการศึกษาจนกระทั่งสำเร็จการศึกษา และขอบคุณเพื่อนๆ ที่ให้กำลังใจ และอยู่เคียงข้างตลอดมา

สุดท้ายนี้ทางผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่าโครงการพิเศษฉบับนี้จะเป็นประโยชน์ในด้านการศึกษาแก่ผู้ที่สนใจ และหากมีความผิดพลาดประการใดทางคณะผู้จัดทำก็ขอภัย ณ โอกาสนี้

ชวกร	ตันธนสุทิวงศ์
สุวนันท์	โสมเกษตรินทร์
อภิวัฒน์	สุรนนท์เสถียร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย .....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....	ข
กิตติกรรมประกาศ .....	ค
สารบัญ .....	ง
สารบัญตาราง .....	ช
สารบัญรูป .....	ซ
คำย่อ/สัญลักษณ์ .....	ญ
<b>บทที่ 1 บทนำ</b> .....	<b>1</b>
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ .....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย .....	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย .....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ .....	2
<b>บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b> .....	<b>3</b>
2.1 ครีเอทีนกับการตรวจวินิจฉัยโรคไต .....	3
2.2 อนุภาคทองคำนาโน .....	5
2.3 การเกิดเซอ์เฟส พลาสมอน เรโซแนนซ์ .....	11
2.4 หลักการของสีตามระบบ RGB .....	12
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง .....	14
2.5.1 งานวิจัยเกี่ยวกับการสังเคราะห์อนุภาคทองคำนาโนและการประยุกต์ใช้ .....	14
2.5.2 งานวิจัยที่เกี่ยวกับการตรวจวัดด้วยกระดาษโดยใช้อนุภาคทองคำนาโน .....	16
2.5.3 งานวิจัยที่เกี่ยวกับการวิเคราะห์หาปริมาณครีเอทีนในปัสสาวะ .....	19
2.6 หลักการตรวจวัดในโครงการวิจัยนี้ .....	22
<b>บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย</b> .....	<b>23</b>
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ .....	23
3.1.1 สารเคมี .....	23
3.1.2 วัสดุ อุปกรณ์และเครื่องมือตรวจวัด .....	23
3.2 การเตรียมสารละลาย .....	24
3.2.1 การเตรียมสารละลายสำหรับการสังเคราะห์อนุภาคทองคำระดับนาโน .....	24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระดับนาโน.....	24
3.2.3 การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการตรวจวัดครีอะตินินด้วยอนุภาคทอง ระดับนาโนบนกระดาษ .....	25
3.2.4 การเตรียมอุปกรณ์กระดาษเพื่อใช้ในการตรวจวัด .....	26
3.2.5 การเตรียมตัวอย่างปัสสาวะ .....	26
3.2.6 การเตรียม Spike sample.....	26
3.3 วิธีดำเนินการทดลอง .....	27
3.3.1 การสังเคราะห์อนุภาคทองนาโน .....	27
3.3.2 ศึกษาการตรวจวัดครีอะตินินด้วยอนุภาคทองนาโนโดยใช้เทคนิค ยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี .....	27
3.3.3 ศึกษาสภาวะในการตรวจวัดครีอะตินินด้วยอนุภาคทองระดับนาโน บนกระดาษ.....	27
3.3.4 การตรวจวัดครีอะตินินด้วยอนุภาคทองระดับนาโนในตัวอย่างปัสสาวะ .....	29
<b>บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล .....</b>	<b>30</b>
4.1 ผลการศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโน.....	30
4.2 ผลการศึกษาการตรวจวัดครีอะตินินด้วยอนุภาคทองระดับนาโนโดยใช้ เทคนิค ยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี.....	32
4.3 ผลการศึกษาการเตรียมอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ.....	34
4.3.1 ผลการศึกษาความเข้มข้นของโพลีไวนิลแอลกอฮอล์ที่เหมาะสมในการรักษา เสถียรภาพอนุภาคทองระดับนาโนบนกระดาษกรอง.....	34
4.3.2 ผลการศึกษาความสม่ำเสมอของการตรึงอนุภาคทองนาโนบนกระดาษ แต่ละแผ่น .....	38
4.3.3 ผลการเปรียบเทียบวิธีการทำให้อุปกรณ์ตรวจวัดแห้ง .....	39
4.4 อิทธิพลของตัวแปรที่ส่งผลต่อการตรวจวัด .....	39
4.4.1 ผลของความเข้มข้นของอนุภาคทองระดับนาโนที่ใช้ในการเตรียมอุปกรณ์ ตรวจวัด .....	39
4.4.2 ผลจากอิทธิพลของเวลาที่มีผลในการตรวจวัด .....	40
4.4.3 ผลจากขนาดรูพรุนของกระดาษกรองที่เหมาะสมในการใช้เป็นอุปกรณ์ ตรวจวัด .....	41
4.5 ผลการศึกษาความเป็นเส้นตรงและความเที่ยง .....	43
4.6 การศึกษาการตรวจวัดครีอะตินินโดยใช้อนุภาคทองระดับนาโนในตัวอย่างปัสสาวะ	44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	45
เอกสารอ้างอิง .....	47
ภาคผนวก ก.....	51
ภาคผนวก ข.....	53
ภาคผนวก ค.....	56



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 สรุปการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวกับการสังเคราะห์อนุภาคทองคำและการประยุกต์ใช้.....	16
2.2 สรุปการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวกับการตรวจวัดด้วยกระดาษโดยใช้อนุภาคทองคำ.....	18
2.3 สรุปการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการตรวจหาปริมาณครีอะตินินในปัสสาวะ.....	21
3.1 แสดงอัตราส่วนของสารละลาย (Centrifuged AuNPs : PVA : DI Water).....	26
3.2 แสดงอัตราส่วนของสารละลาย (Sample : Std. creatinine : DI Water).....	26
4.1 แสดงการเปรียบเทียบสีอุปกรณ์ตรวจวัดหลังหยดสารละลายมาตรฐานครีอะตินิน .....	34
4.2 เปรียบเทียบสีบนอุปกรณ์ตรวจวัด.....	39
4.3 เปรียบเทียบสีบนอุปกรณ์ตรวจวัดเมื่อใช้สารละลายอนุภาคทองคำระดับนาโน ที่สังเคราะห์ได้และอนุภาคทองคำและอนุภาคทองคำที่ผ่านการ Centrifuge.....	39
4.4 เปรียบเทียบสีบนอุปกรณ์ตรวจวัดที่ทำการตรวจวัดนาที่ที่ 1, 10 และ 30.....	40
4.5 เปรียบเทียบสีบนอุปกรณ์ตรวจวัดของกระดาษกรองเบอร์ 1, 2 และ 3.....	41
4.6 สรุปสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดหาปริมาณครีอะตินินบนกระดาษ.....	43
4.7 แสดงผลร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับในตัวอย่างปัสสาวะ .....	44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 ภาพแสดงกลไกการการเกิดครีอะตินิน.....	4
2.2 แสดงปฏิกิริยาของ Jaffe reaction .....	4
2.3 ภาพแสดงก้อนโลหะขนาดนาโน (0 D).....	5
2.4 ภาพแสดงท่อนาโนคาร์บอน (1 D).....	6
2.5 ภาพแสดงแผ่นฟิล์มบางในระดับนาโน (2 D).....	6
2.6 ภาพแสดง Scale เปรียบเทียบขนาดของสิ่งต่างๆ ตั้งแต่ $10^{-2}$ - $10^{-9}$ เมตร.....	7
2.7 ภาพแสดงศาสตราจารย์ ริชาร์ด ฟิลลิปส์ โพนแมน บิดาแห่งนาโนเทคโนโลยี.....	7
2.8 TEM micrographs กำลังขยาย 30 nm ของอนุภาคของระดับนาโนที่ขนาดอนุภาคแตกต่างกันและสีสารละลายอนุภาคของระดับนาโนที่ขนาดอนุภาคแตกต่างกัน.....	9
2.9 Surface plasmon band ของอนุภาคของระดับนาโนที่รูปร่างต่างๆ และภาพจาก TEM micrographs กำลังขยาย 100 nm.....	9
2.10 ภาพแสดงสีของทองคำก่อนลดขนาดและหลังลดขนาดอนุภาคให้อยู่ในระดับนาโน.....	10
2.11 ภาพแสดงสีของอนุภาคของระดับนาโนในรูปร่างต่างๆ .....	10
2.12 ภาพแสดงการเกิดเซอร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์ ของอนุภากระดับนาโน.....	11
2.13 แสดงระบบสี Color Model แบบ RGB, แบบ CMYK, แบบ HSB, แบบ $L^*a^*b^*$ .....	13
2.14 แสดงตัวอย่างการกำหนดค่าสีในระบบ RGB .....	14
2.15 แสดงกลไกในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างอนุภาคของนาโนกับครีอะตินินโดยใช้ PVA เป็นตัวรักษาเสถียรภาพ.....	22
4.1 แสดง Surface plasmon band และสีของสารละลายอนุภาคของระดับนาโนที่สังเคราะห์ขึ้น .....	30
4.2 แสดงกลไกในการเกิดอนุภาคของระดับนาโน.....	31
4.3 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคของระดับนาโนที่สังเคราะห์ขึ้นทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานครีอะตินินที่ความเข้มข้น 0 – 200 มิลลิกรัมต่อลิตร และภาพแสดงสีของสารละลาย.....	32
4.4 แสดงการเกิดปฏิกิริยาระหว่างอนุภาคของนาโนกับครีอะตินิน.....	33
4.5 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 ต่อ 521 นาโนเมตรกับความเข้มข้นของครีอะตินิน 0-200 มิลลิกรัมต่อลิตร.....	33
4.6 แสดงรูปถ่ายอุปกรณ์ตรวจวัดและค่า Intensity RGB หลังตั้งทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง .....	38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.7 กราฟแสดงค่าความสัมพันธ์ระหว่าง Intensity RGB กับ ความเข้มข้นของครีอะตินิน  
 ที่ทำการตรวจวัดวันที่ 1, 10 และ 30 ..... 41

4.8 กราฟแสดงค่าความสัมพันธ์ระหว่าง Intensity RGB กับ ความเข้มข้นของครีอะตินิน  
 ที่เตรียมจากกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1, 2 และ 3 ..... 42

4.9 กราฟมาตรฐานแสดงค่าความสัมพันธ์ระหว่าง Intensity RGB กับความเข้มข้นของ  
 ครีอะตินิน และสีของอุปกรณ์ตรวจวัด..... 43



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## คำย่อ/สัญลักษณ์

คำย่อ/สัญลักษณ์	คำอธิบาย
AuNPs	อนุภาคทองระดับนาโน
HAuCl <sub>4</sub>	ไฮโดรเจนเตตระคลอโรอูริก
Citrate	โซเดียมซิเตรท
PVA	โพลีไวนิลแอลกอฮอล์
mL	มิลลิลิตร
μL	ไมโครลิตร
ppm	มิลลิกรัมต่อลิตร
mM	มิลลิโมลาร์
μM	ไมโครโมลาร์
nM	นาโนโมลาร์
g	กรัม
ε	โมลาร์ แอ็บซอร์บติวิตี
SPR	เซอร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์
RGB	ระบบสีที่เกิดจากการรวมกันของแสง สีแดง เขียว น้ำเงิน
LOD	ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

ครีอะตินินเป็นของเสียที่ร่างกายผลิตขึ้นจากกระบวนการย่อยสลายครีเอติน โดยครีอะตินินที่เกิดสะสมอยู่ในเลือดนั้น จะต้องถูกกำจัดออกทางปัสสาวะโดยการทำงานของไต ในคนปกติจะมีการขับถ่ายครีอะตินินอย่างคงที่ โดยจะมีปริมาณครีอะตินินในช่วง 350 -2590 และ 280-2170 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับเพศชาย และ เพศหญิง ตามลำดับ หากตรวจพบว่าปริมาณครีอะตินินในปัสสาวะแตกต่างออกไปจากช่วงนี้ จะถือว่าไตทำงานผิดปกติ ดังนั้นปริมาณครีอะตินินในปัสสาวะจึงใช้เป็นดัชนีในการบ่งชี้ความผิดปกติของไตได้ การวัดระดับครีอะตินินในปัสสาวะจึงมีความสำคัญในแง่ของการตรวจวินิจฉัยโรคไต

วิธีที่นิยมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณครีอะตินินในปัสสาวะ คือวิธีการของจอฟเฟ้ (Jaffe method) โดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยาระหว่างครีอะตินินกับพิคริกแอซิดในสภาวะสารละลายที่เป็นเบส การตรวจวัดจะอ่านค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ซึ่งมีสีส้มแดง วิธีนี้เป็นวิธีที่ง่าย ใช้อุปกรณ์เพียงเครื่องยูวี-วิชิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ที่มีอยู่ตามห้องปฏิบัติการทั่วไป แต่อย่างไรก็ตามวิธี Jaffe นี้ มีข้อจำกัด คือ ปฏิกิริยาการตรวจวัดมีความจำเพาะเจาะจงต่ำ อาจถูกรบกวนด้วยสารต่างๆ ที่เป็นองค์ประกอบในปัสสาวะ ทำให้ผลวิเคราะห์คลาดเคลื่อนได้

ในปัจจุบัน อนุภาคทองคำนาโน (gold nanoparticles, AuNPs) ได้รับความสนใจนำมาประยุกต์ใช้อย่างแพร่หลาย ดังปรากฏในงานวิจัยเป็นจำนวนมากที่พบว่ามีการนำ AuNPs มาใช้เป็นเซนเซอร์ทางเคมี สำหรับตรวจวัดสารต่างๆ สาเหตุที่มีการประยุกต์ใช้ AuNPs อย่างกว้างขวางเป็นเพราะอนุภาค AuNPs มีค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสงสูง สามารถดูดกลืนแสงได้ดี

ดังนั้น ในโครงการวิจัยนี้ จึงมีความสนใจที่จะประยุกต์ใช้อนุภาค AuNPs เป็นเซนเซอร์ในการตรวจวัดทางเคมี เพื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณครีอะตินิน โดยจะทำการตรึง AuNPs และตรวจวัดบนกระดาษ โดยอนุภาค AuNPs จะเกิดการรวมตัวกันเมื่อทำปฏิกิริยากับครีอะตินิน ส่งผลให้เกิดสีม่วงขึ้นบนกระดาษและจะทำการถ่ายรูปสีของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นโดยใช้กล้องโทรศัพท์มือถือ วิธีที่พัฒนาขึ้นนี้ มีข้อดีคือ ทำได้สะดวก รวดเร็ว และสามารถพัฒนาต่อยอดเป็นชุดทดสอบข้างเตียงผู้ป่วย (Point-of-care testing) ต่อไปในอนาคตได้

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการตรึงอนุภาค AuNPs บนกระดาษ
2. เพื่อพัฒนาวิธีการตรวจวัดครีอะตินินบนกระดาษที่ตรึงด้วยอนุภาค AuNPs โดยใช้โทรศัพท์มือถือในการถ่ายรูปผลิตภัณฑ์
3. เพื่อประยุกต์ใช้และตรวจสอบความถูกต้องของวิธีที่พัฒนาขึ้น สำหรับหาปริมาณครีอะตินินในปัสสาวะ

## 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1. ศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้อง
2. สังเคราะห์อนุภาค AuNPs ตามวิธีของ Turkevich
3. ศึกษาสมบัติ Surface plasmon resonance ของอนุภาค AuNPs
4. ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการตรึงอนุภาค AuNPs บนกระดาษ
5. ศึกษาหลักการตรวจวัดครีอะตินิน โดยใช้กระดาษที่ตรึงอนุภาค AuNPs เป็นอุปกรณ์ในการตรวจวัดร่วมกับการใช้โทรศัพท์มือถือ
6. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการตรวจวัดครีอะตินินบนกระดาษ
7. ศึกษาคุณลักษณะของวิธีที่พัฒนาขึ้น
8. ประยุกต์ใช้วิธีที่พัฒนาขึ้นเพื่อหาปริมาณครีอะตินินในปัสสาวะและตรวจสอบความถูกต้องของวิธี
9. เผยแพร่ผลงานวิจัย

## 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัยนี้

ได้วิธีตรวจวัดปริมาณครีอะตินินในปัสสาวะที่มีความถูกต้องแม่นยำสูง และเป็นวิธีที่ง่าย สะดวก รวดเร็ว

## บทที่ 2

# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

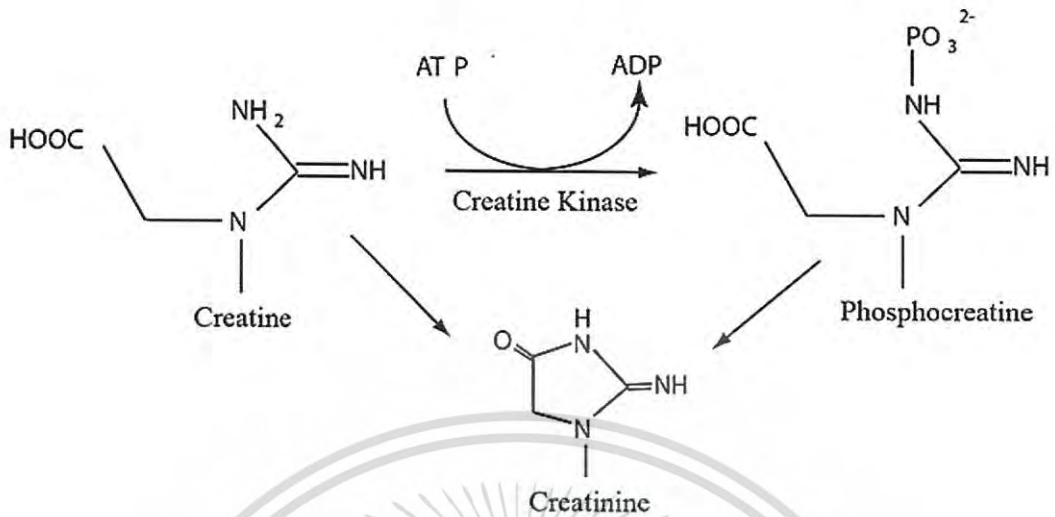
### 2.1 ครีเอตินีนกับการตรวจวินิจฉัยโรคไต [1]

ไตเป็นอวัยวะที่มีรูปร่างลักษณะคล้ายเมล็ดถั่วแดงมีขนาดเท่ากำปั้นของคน โดยปกติไตของมนุษย์มี 2 ข้าง วางอยู่บริเวณกลางหลังข้างละ 1 อัน ทำหน้าที่เปรียบเสมือนเครื่องกรองชนิดพิเศษ โดยไตแต่ละข้างจะประกอบด้วยหน่วยไตเล็กๆ ที่เรียกว่า เนฟรอน (Nephron) ซึ่งมีอยู่ข้างละประมาณ 1 ล้านหน่วย แต่ละหน่วยประกอบไปด้วยกรวยไต (Glomerulus) ทำหน้าที่กรองของเสียออกจากเลือด และท่อของหน่วยไต (Convolved tubule) ทำหน้าที่ขับถ่ายและดูดซึมสารที่จำเป็นกลับสู่ร่างกาย ในแต่ละวันจะมีเลือดประมาณ 240 ลิตร/วัน ที่ถูกกรองผ่านเนื้อไต ส่วนที่เหลือจะถูกขับออกในรูปของน้ำปัสสาวะประมาณ 2.4 ลิตร/วัน ลงสู่ท่อไตและกระเพาะปัสสาวะเพื่อกำจัดเกลือแร่ สารเคมีส่วนเกิน และคั่งหลังของเสียที่ร่างกายไม่ต้องการออกนอกร่างกาย

หน้าที่สำคัญของไตมีอยู่ 4 ประการคือ 1) ปรับสมดุลเกลือแร่ในร่างกาย โดยทำการขับเกลือแร่ส่วนที่เกินความต้องการออกมาในรูปของปัสสาวะ 2) กำจัดของเสียที่ไม่จำเป็นออกจากร่างกาย เช่น ยาที่รับประทานและฉีดเข้าสู่ร่างกาย จะกำจัดทิ้งเพื่อป้องกันการตกค้างของสารต่างๆ ซึ่งเป็นพิษต่อร่างกาย 3) ทำหน้าที่ผลิตฮอร์โมนสำคัญให้แก่ร่างกายเพื่อช่วยควบคุมความดันโลหิตของร่างกายและการดูดซึมของเกลือแร่ เช่น ฮอร์โมนเรนิน (Hormone renin) ฮอร์โมนอิริโทรพอยอีติน (Hormone erythropoietin) และวิตามินดี (Vitamin D) 4) ปรับสมดุลของน้ำในร่างกายเพื่อควบคุมการขับหรือเก็บน้ำไว้ในร่างกาย โดยเมื่อขาดน้ำจะทำให้รู้สึกกระหายน้ำมากขึ้น

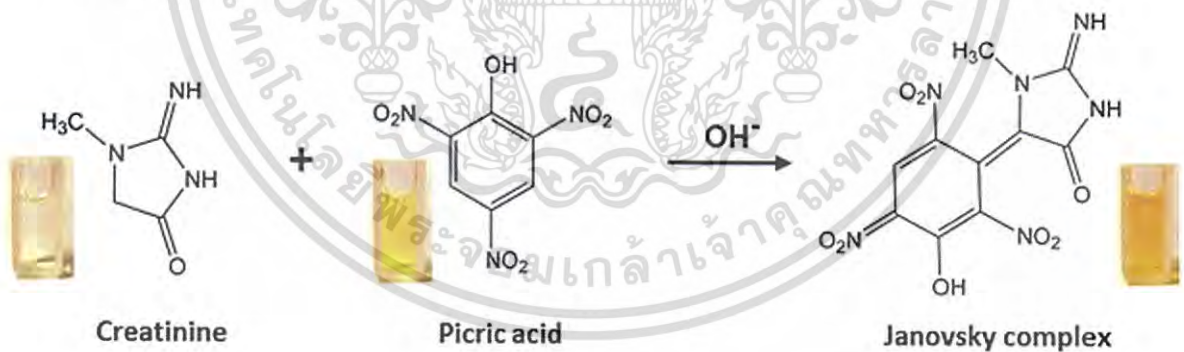
ของเสียที่เกิดขึ้นจากกระบวนการเมแทบอลิซึมในส่วนใหญ่จะประกอบไปด้วย ยูเรีย (Urea) ประมาณร้อยละ 45 กรดอะมิโน ประมาณร้อยละ 25 และ กรดยูริก (Uric acid) ครีเอตินีน ครีเอตินีน แอมโมเนีย ประมาณร้อยละ 15 เป็นต้น ซึ่งในการวินิจฉัยภาวะเสี่ยงต่อการเป็นโรคไต สามารถดูจากปริมาณของเสียที่ขับออกทางปัสสาวะที่มีค่าเกินกว่ามาตรฐานที่กำหนดไว้ หนึ่งในของเสียที่สามารถใช้เป็นตัวชี้วัดภาวะเสี่ยงโรคไตคือ ครีเอตินีน ซึ่งเป็นของเสียจากการสลายตัวของครีเอตินและครีเอตินฟอสเฟส ซึ่งกลไกการเกิดครีเอตินีนแสดงดังรูปที่ 2.1 โดยครีเอตินีนจะถูกกำจัดออกจากเลือดโดยผ่านการทำงานของหน่วยไต ขับออกมาทางปัสสาวะเกือบทั้งหมด ในคนปกติจะมีการขับถ่ายครีเอตินีนอย่างคงที่ โดยจะมีปริมาณครีเอตินีนอยู่ในช่วง 350-2590 และ 280-2170 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับเพศชาย และ เพศหญิง ตามลำดับ หากพบปริมาณครีเอตินีนที่ผิดไปจากค่าปกตินี้ จะแสดงให้เห็นถึงภาวะ

การทำงานของไตที่ลดลง ดังนั้นการตรวจวัดระดับครีเอตินิน จึงเป็นตัวบ่งชี้ในการคัดกรอง วินิจฉัย ประเมินการรักษา และติดตามการรักษาโรคไตได้เป็นอย่างดี



รูปที่ 2.1 แสดงกลไกการเกิดครีเอตินิน [2]

ในปัจจุบันมีวิธีการตรวจวัดปริมาณครีเอตินินในปัสสาวะอยู่ด้วยกันหลายวิธี โดยวิธีที่นิยมใช้คือ วิธีการของจาฟเฟ่ ซึ่งเป็นวิธีการตรวจวัดปริมาณครีเอตินินโดยที่ไม่ต้องทำการตกตะกอนโปรตีนก่อน โดยครีเอตินินในสารตัวอย่างจะทำปฏิกิริยากับ กรดพิคริก (Picric acid) ในสารละลายที่เป็นด่างแล้วเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีส้มแดง โดยปฏิกิริยาแสดงดังรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 แสดงปฏิกิริยาของ Jaffe reaction [3]

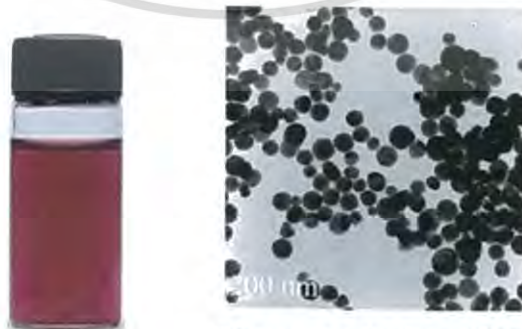
สารประกอบ Janovsky complex มีค่าดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 485 นาโนเมตร สามารถสังเกตสีที่เกิดขึ้นได้ด้วยตา จึงจัดเป็นวิธีที่ง่ายและสะดวกและรวดเร็ว แต่เนื่องจากปฏิกิริยามีความจำเพาะเจาะจงต่ำและอาจถูกรบกวนด้วยสารอื่นที่เป็นองค์ประกอบในปัสสาวะได้ เช่น กลูโคส โปรตีน วิตามินซี เป็นต้น ซึ่งอาจส่งผลให้ผลการวิเคราะห์คลาดเคลื่อนได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.2 อนุภาคของนาโน [4]

คำว่านาโน (Nano) แต่เดิมมีรากศัพท์มาจากคำในภาษากรีกว่า "Nanos" และในภาษาละตินว่า "Nanus" แปลว่า "แคระ" หรือ "จิ๋ว" โดยคำว่า นาโน ถูกใช้เป็นคำนำหน้าหน่วยแสดงปริมาณในระดับเพียงหนึ่งพันล้านส่วนของเมตร หรือ  $10^{-9}$  เมตร เท่านั้น และคำว่า เทคโนโลยี (Technology) หมายถึง วิทยาการ การใช้ความรู้ เครื่องมือ ความคิด หลักการ เทคนิค ระเบียบวิธี กระบวนการตลอดจน ผลงานทางวิทยาศาสตร์ทั้งสิ่งประดิษฐ์และวิธีการ มาประยุกต์ใช้ในระบบงาน เพื่อช่วยให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในการทำงานให้ดียิ่ง ดังนั้นคำว่า นาโนเทคโนโลยี จึงหมายถึง วิทยาการที่นำเอาความรู้เกี่ยวกับวัสดุหรือโครงสร้างที่มีขนาดเล็กจิ๋วขนาดในช่วง 1 - 100 นาโนเมตร มาใช้ประโยชน์ในงานวิจัยทางด้าน ชีววิทยา เคมี ฟิสิกส์ หรือการนำมาประยุกต์ใช้ในงานทางด้าน อุตสาหกรรม การที่จะสามารถมองเห็นขนาดเล็กระดับ 1 นาโนเมตร ได้นั้นจะต้องใช้กล้องจุลทรรศน์ที่มีกำลังขยายสูงมาก เช่น กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนหรือกล้องจุลทรรศน์ชนิดใหม่ๆ ที่ถูกสร้างขึ้นมาเพื่อใช้ในการศึกษาและวิจัยทางด้านนาโนเทคโนโลยี โดยวัสดุหรือโครงสร้างที่มีขนาดในระดับนาโน จะถูกจัดว่าเป็นโครงสร้างที่มีระบบมิติต่ำ (Low dimensional systems, LDSs) เนื่องจากมิติทางกายภาพ (กว้าง ยาว และ สูง) ของวัสดุหรือโครงสร้างระดับนาโน อย่างน้อยหนึ่งมิติจะถูกจำกัดขนาดอยู่ในช่วง นาโนเมตร ทำให้การเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนบนพื้นผิววัสดุหรือโครงสร้างระดับนาโน แตกต่างไปจากวัสดุขนาดใหญ่ (Bulk materials) ซึ่งส่งผลให้สมบัติทางไฟฟ้า สมบัติทางแม่เหล็ก สมบัติเชิงเคมีและสมบัติทางแสงของอนุภาคเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม ซึ่งสามารถใช้ LDSs ในการแบ่งวัสดุและโครงสร้างระดับนาโนออกเป็นกลุ่มๆ ดังนี้

1. ระบบศูนย์มิติ Zero-dimensional systems (0D) คือวัสดุหรือโครงสร้างที่มีมิติทางกายภาพทั้งสามมิติ (กว้าง ยาว สูง) ถูกจำกัดอยู่ในช่วงนาโนเมตร เช่น กลุ่มก้อนของโลหะที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ในระดับนาโนเมตร เป็นต้น

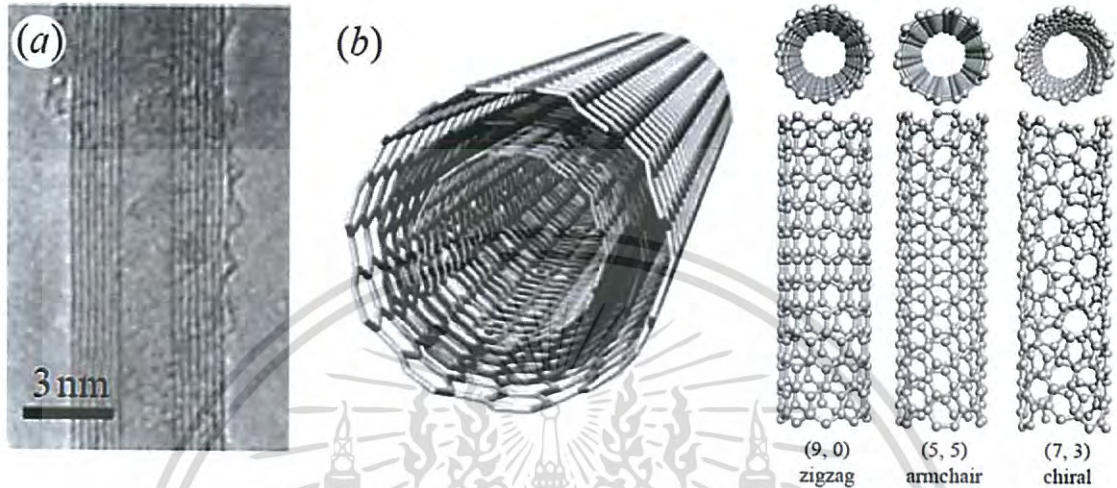


Nanoparticles (0D)

รูปที่ 2.3 แสดงวัสดุก้อนโลหะขนาดนาโน (0D) [5]

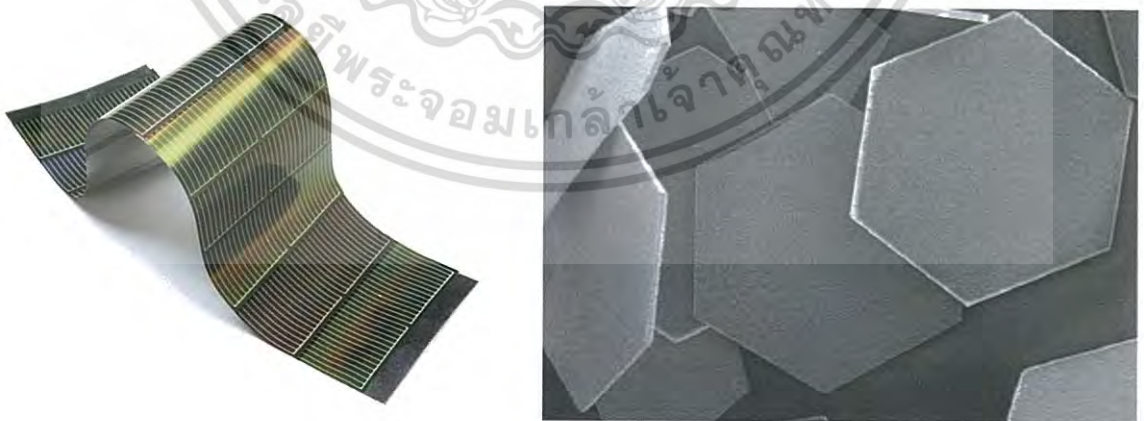
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ระบบหนึ่งมิติ One-dimensional systems (1D) คือวัสดุหรือโครงสร้างที่มีมิติทางกายภาพสองมิติถูกจำกัดอยู่ในช่วงนาโนเมตร แต่มิติที่เหลืออีกหนึ่งมิติไม่ถูกจำกัดขนาด ยกตัวอย่างเช่น ลวดนาโน (Nanowires) หรือท่อนาโนคาร์บอน (Carbon nanotubes) ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ในระดับนาโนเมตร แต่มีความยาวของท่ออยู่ในระดับไมโครเมตรหรือมิลลิเมตร เป็นต้น



รูปที่ 2.4 แสดงวัสดุท่อนาโนคาร์บอน (1D) [6]

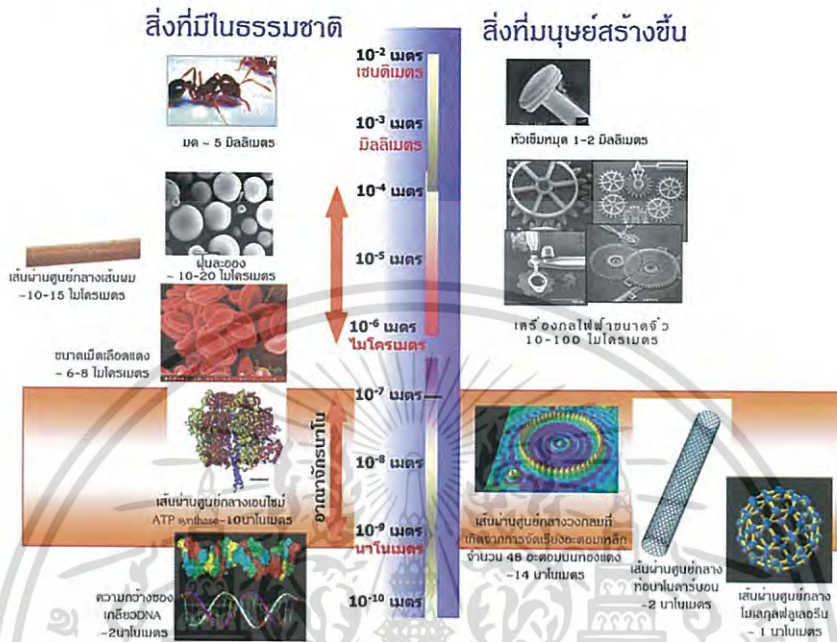
3. ระบบสองมิติ Two-dimensional systems (2D) คือ วัสดุหรือโครงสร้างที่มีมิติทางกายภาพหนึ่งมิติถูกจำกัดอยู่ในช่วงนาโนเมตร แต่มิติที่เหลืออีกสองมิติไม่ถูกจำกัดขนาด ยกตัวอย่าง เช่น ฟิล์มบางในระดับนาโน (Nano-thin film) ที่เกิดจากการประกอบตัวเองของอะตอมหรือโมเลกุล เป็นต้น



รูปที่ 2.5 แสดงวัสดุแผ่นฟิล์มบางในระดับนาโน (2D) [7]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัสดุหรือโครงสร้างระดับนาโนนั้นสามารถเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ และเกิดจากการกระทำของมนุษย์ ชนิดที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติอาจพบได้หลังเกิดไฟป่าหรือภูเขาไฟระเบิด บางชนิดอาจอยู่ในรูปของอนุภาคไวรัสที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม ส่วนอนุภาคนาโนที่เกิดจากการกระทำของมนุษย์สามารถเตรียมได้จากการสังเคราะห์ทางเคมีและชีวภาพโดยตรง



รูปที่ 2.6 แสดง Scale เปรียบเทียบขนาดของสิ่งต่างๆ ตั้งแต่  $10^{-2}$  -  $10^{-9}$  เมตร [8]

บุคคลที่ได้รับการยอมรับว่าเป็นบิดาแห่งนาโนเทคโนโลยีคือ ศาสตราจารย์ ริชาร์ด ไฟลลิปส์ ไฟน์แมน (พ.ศ. 2461-2531) [9] ได้แสดงปาฐกถาต่อสาธารณชน ณ สถาบันเทคโนโลยีแคลิฟอร์เนีย เมื่อปี พ.ศ. 2502 ภายใต้วหัวข้อ “There’s plenty of room at the bottom” ซึ่งเป็นคำกล่าวที่นำมาสู่ความเข้าใจว่า “สักวันหนึ่งมนุษย์จะสามารถประดิษฐ์หรือผลิตสิ่งของต่างๆ ด้วยการนำอะตอมมาจัดเรียงอย่างแม่นยำและเป็นสิ่งที่เกิดขึ้นอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้” ด้วยคำปาฐกถานี้เองเป็นการจุดประกายความคิดให้แก่นักวิทยาศาสตร์ทั่วโลกต่อความสนใจเทคโนโลยีในระดับนาโน



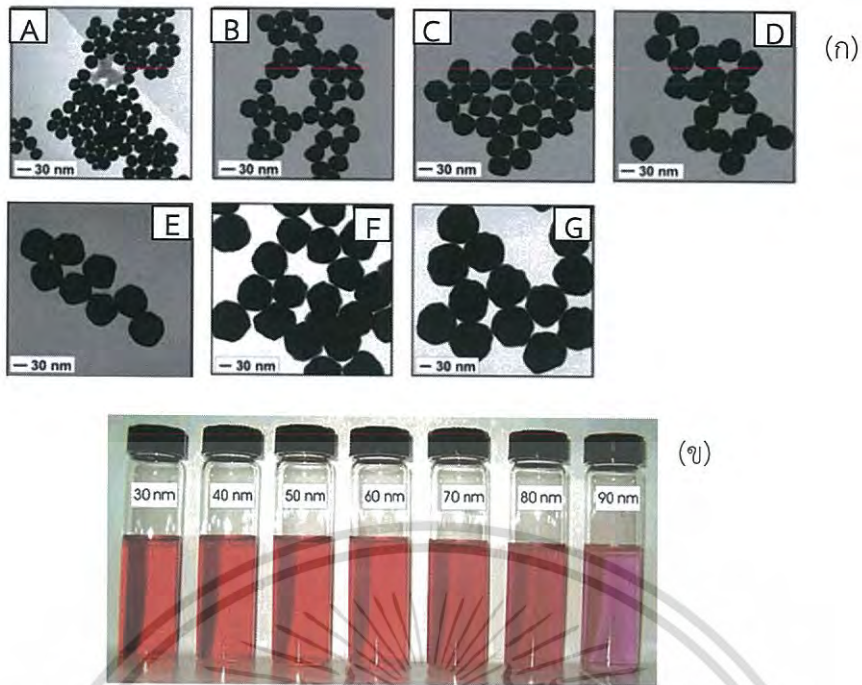
รูปที่ 2.7 ศาสตราจารย์ ริชาร์ด ไฟลลิปส์ ไฟน์แมน บิดาแห่งนาโนเทคโนโลยี [10]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัจจุบันนาโนเทคโนโลยีเข้ามามีบทบาทในชีวิตประจำวันของมนุษย์มากขึ้น ซึ่งเกิดจากการค้นคว้าและวิจัยของนักวิทยาศาสตร์ที่ต้องการพัฒนาวัสดุและสร้างเครื่องมือเครื่องใช้ที่มีขนาดเล็กลง หรืออาจเข้าไปจัดการกับการจัดเรียงโมเลกุลและอะตอมให้อยู่ในตำแหน่งที่ต้องการได้อย่างลงตัว ด้วยความก้าวหน้าทั้งด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ทำให้ได้มีการประดิษฐ์เครื่องมือและอุปกรณ์ที่จำเป็นต่อการศึกษาทางด้านวิทยาศาสตร์ระดับนาโนขึ้นมา ตัวอย่างเช่น การประดิษฐ์กล้องจุลทรรศน์แบบต่างๆ ได้แก่ Scanning tunneling microscope (STM) และ Atomic force เป็นต้น

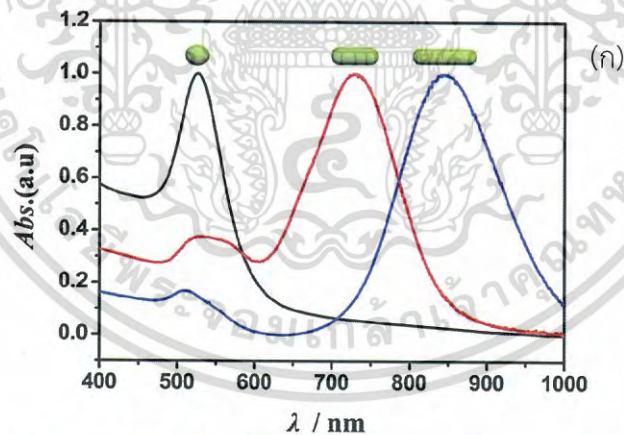
ด้านงานวิจัยทางเคมีวิเคราะห์ ต้องการผลวิเคราะห์ที่ถูกต้องรวดเร็ว แม่นยำ และเชื่อถือได้ ในการหาปริมาณหรือองค์ประกอบของธาตุหรือสารที่สนใจในตัวอย่าง ทั้งในเชิงคุณภาพวิเคราะห์ และปริมาณวิเคราะห์ จึงทำให้มีการพัฒนาวิธีการตรวจวัดเพื่อตอบสนองกับตัวอย่างที่สนใจ โดยการนำเอานวัตกรรมทางนาโนเทคโนโลยีมาประยุกต์ใช้ร่วมกับการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ทางเคมี อนุภาคทองระดับนาโน (Gold nanoparticles, AuNPs) [11] จัดเป็นผลผลิตหนึ่งที่ได้จากนวัตกรรมทางนาโนเทคโนโลยี ซึ่งอนุภาคทองระดับนาโนสามารถสังเคราะห์ขึ้นจากโลหะทองคำ (Au) ซึ่งเป็นธาตุที่รู้จักกันโดยทั่วไป โดยมีลักษณะสมบัติที่เป็นธาตุเฉื่อย ไม่ทำปฏิกิริยากับสารอื่นในสภาวะบรรยากาศ เมื่อทำให้ทองคำมีขนาดเล็กลงจนอยู่ในระดับนาโนจะมีลักษณะคุณสมบัติที่แตกต่างจากทองคำปกติ ได้แก่ สีอนุภาคของทองระดับนาโนจะมีสีหลากหลาย เช่น แดง ฟ้า เขียว หรือน้ำตาล ซึ่งไม่ได้ปรากฏเป็นสีเหลืองทองเหมือนกับทองคำทั่วไป สีที่เปลี่ยนแปลงไปนี้เกิดจากการกระทำของอิเล็กตรอนในแถบ Conduction band ของอนุภาคระดับนาโนชนิดโลหะกับสนามไฟฟ้าที่มาจากแสงที่ตกกระทบ ซึ่งทำให้เกิดการแทรกสอดของอิเล็กตรอนในแถบ Conduction band เกิดขึ้น ซึ่งการแทรกสอดนี้เรียกว่า Localized surface plasmon resonance (LSPR) ซึ่งเกิดภายใต้สเปกตรัมของแสงในช่วงวิซิเบิลและแสงใกล้รังสีเหนือม่วง (UV) โดยการแสดงแสงสีต่างๆนี้ จะขึ้นอยู่กับขนาดและรูปร่างของอนุภาคนาโนของทองคำ เช่น อนุภาคทองระดับนาโนที่มีรูปทรงแท่งจะสามารถดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 800-1200 นาโนเมตร เป็นต้น การแสดงสีของอนุภาคทองระดับนาโนที่มีขนาดแตกต่างกันแสดงดังรูปที่ 2.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.8 (ก) TEM micrographs กำลังขยาย 30 nm ของอนุภาคทองระดับนาโนที่ขนาดอนุภาคแตกต่างกัน (A) 30 nm, (B) 40 nm, (C) 50 nm, (D) 60 nm, (E) 70 nm, (F) 80 nm, (G) 90 nm

(ข) แสดงสีสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนที่ขนาดอนุภาคแตกต่างกัน [12]

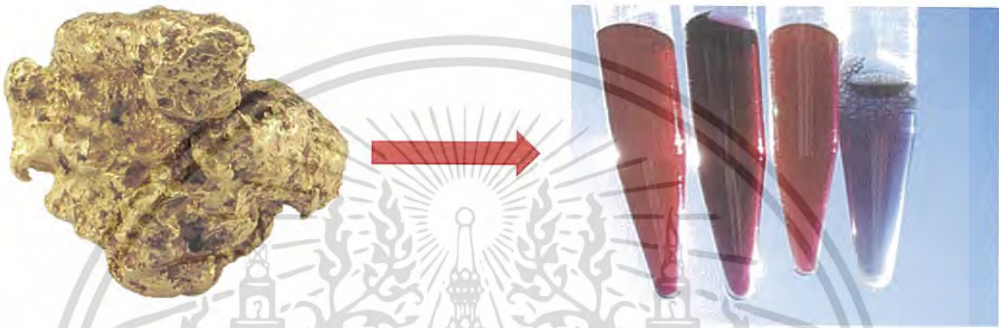


รูปที่ 2.9 (ก) แสดง Surface plasmon band ของอนุภาคทองระดับนาโนที่รูปร่างต่างๆ

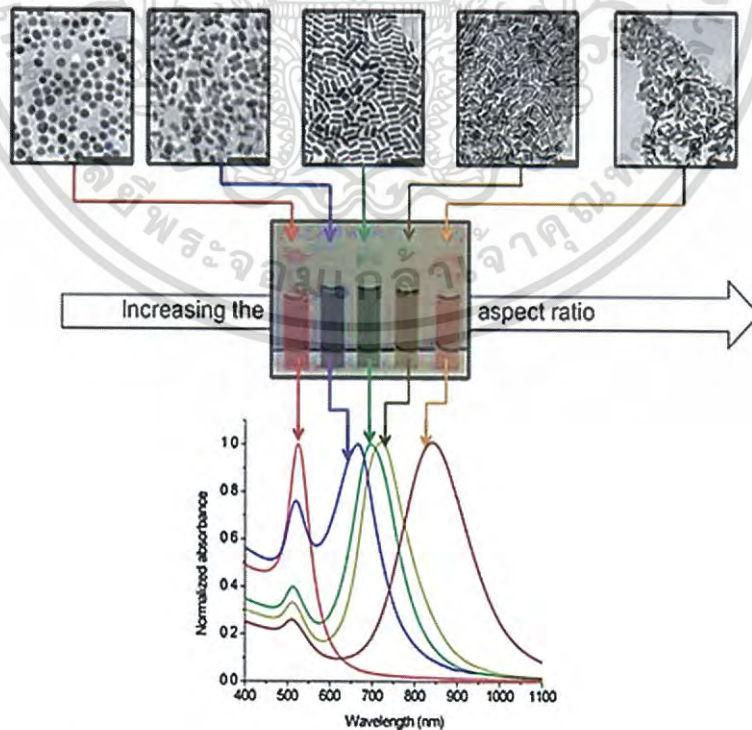
(ข) TEM micrographs กำลังขยาย 100 nm ของอนุภาคทองระดับนาโนที่รูปร่างแตกต่างกัน (A) nanosphere, (B) short nanorod, (C) long nanorod [13]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การที่ทองคำมีสีเหลือง อันเนื่องมาจากทองคำดูดกลืนแสงสีน้ำเงินที่อยู่ในช่วงปลายของสเปกตรัมคลื่นแสงที่มองเห็นได้ (Visible) แต่ถ้าลดขนาดทองคำให้มีขนาดเล็กลงจนมีขนาดอนุภาคเล็กกว่าความยาวคลื่นแสงที่มาตกกระทบ จะทำให้เกิดปรากฏการณ์ เซอร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์ (Surface plasmon resonance, SPR) ซึ่งมีผลทำให้อนุภาคทองระดับนาโนเปลี่ยนไปดูดกลืนแสงสีเขียว (ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร) ซึ่งส่งผลให้อนุภาคทองระดับนาโนมีสีแดงไวน์ (Wine red) นอกจากนี้ถ้าอนุภาคทองระดับนาโนมีขนาดใหญ่ขึ้น สีของอนุภาคทองและแถบการดูดกลืนแสงจะเปลี่ยนไปทางความยาวคลื่นที่เพิ่มขึ้น (Red shift)



รูปที่ 2.10 แสดงสีของทองคำก่อนลดขนาด (ซ้าย) และหลังลดขนาดอนุภาคให้อยู่ในระดับนาโน (ขวา) [14]

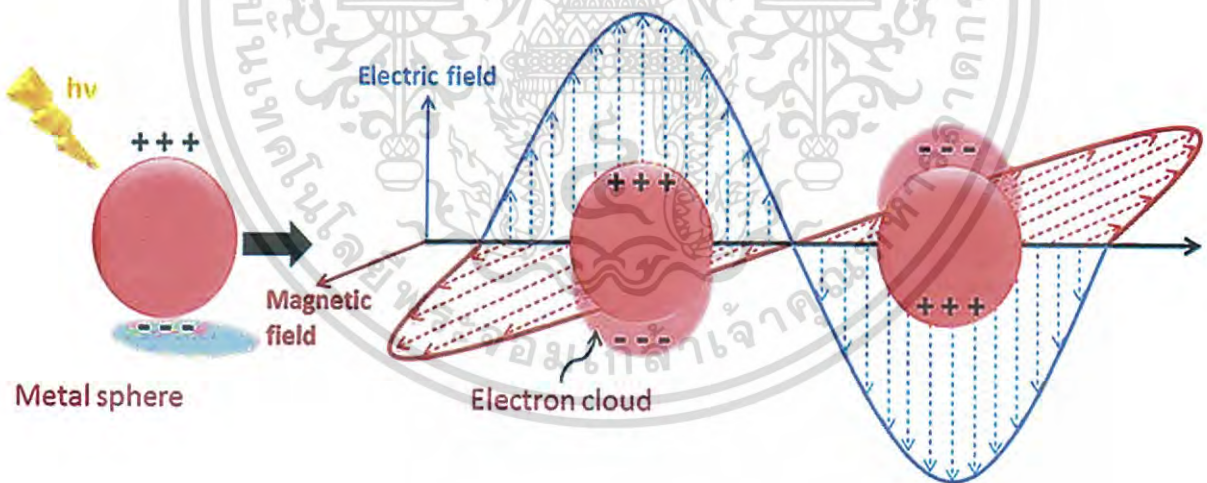


รูปที่ 2.11 แสดงสีของอนุภาคทองระดับนาโนในรูปร่างต่างๆ [15]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.3 การเกิดเซอ์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์ (Surface plasmon resonance) [14]

เซอ์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์ (SPR) คือปรากฏการณ์คลื่นความหนาแน่นของประจุที่เกิดจากการสั่นพ้องของกลุ่มหมอกอิเล็กตรอนอิสระที่มีลักษณะการสั่นพร้อมเพรียงกันที่เกิดขึ้นบริเวณพื้นผิวของโลหะกับสารไดอิเล็กทริก เช่น ระหว่างทองกับอากาศหรือสารละลาย ซึ่งเกิดจากการเคลื่อนที่ของประจุบวกและประจุลบ เมื่อเกิดการเคลื่อนที่ของประจุก็จะเกิดแรงดึงดูดระหว่างประจุ โดยอิเล็กตรอนจะเป็นตัวที่วิ่งรอบประจุบวกโดยเคลื่อนที่ขึ้นและลงไปตามประจุบวกไปเรื่อยๆ คลื่นสามารถเคลื่อนที่ไปได้ทุกทิศทาง เมื่อประจุบวกวิ่งไปอิเล็กตรอนก็จะวิ่งตามทำให้เกิด Psi wave เกิดขึ้น โดยที่ขนาดยอดคลื่นและความกว้างของสเปกตรัม พลาสมอน เรโซแนนซ์ของวัสดุต่างๆ จะขึ้นอยู่กับขนาด รูปร่าง ประเภทของวัสดุและสภาพแวดล้อมรอบวัสดุนั้นๆ โดยโลหะชนิดอื่นนอกเหนือไปจากทองคำ ก็สามารถแสดงปรากฏการณ์เชิงแสงในลักษณะเดียวกันนี้ได้เช่นเดียวกัน เช่น อนุภาคเงินระดับนาโน (AgNPs) จะมีสีเหลืองเข้มแทนที่จะเป็นสีเงินขาว โดยโลหะส่วนใหญ่จะมีความถี่เรโซแนนต์อยู่ในช่วงใกล้อินฟราเรด ซึ่งอยู่นอกสเปกตรัมของช่วงแสงที่ตามองเห็น นอกจากนี้อนุภาคระดับนาโนของโลหะเกือบทุกชนิด ไม่สามารถคงตัวอยู่ในรูปอนุภาคระดับนาโนได้นานในสภาวะแวดล้อมตามปกติ ทำให้ไม่ค่อยพบปรากฏการณ์นี้ในโลหะชนิดอื่นๆ



รูปที่ 2.12 ภาพแสดงการเกิดเซอ์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์ ของอนุภาคระดับนาโน [16]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การที่เซอร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์ จะเกิดขึ้นได้ต้องมีอัตราส่วนรัศมีต่อความยาวคลื่นน้อยกว่า 0.1 ก็จะทำให้เกิดการสั่นพ้องของอิเล็กตรอนได้ซึ่งเป็นไปตามความสัมพันธ์ดังสมการต่อไปนี้

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

โดยที่ R คือ รัศมีของอนุภาคระดับนาโน (nm)

$\lambda$  คือ ความยาวคลื่นแสง (nm)

ถ้า  $R > \lambda$  จะไม่เกิดเซอร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์ เพราะความยาวคลื่นไม่สามารถไปเหนี่ยวนำให้เกิดการสั่นพ้องของกลุ่มหมอกอิเล็กตรอนบนพื้นผิวของอนุภาคได้

## 2.4 หลักการของสีตามระบบ RGB [17]

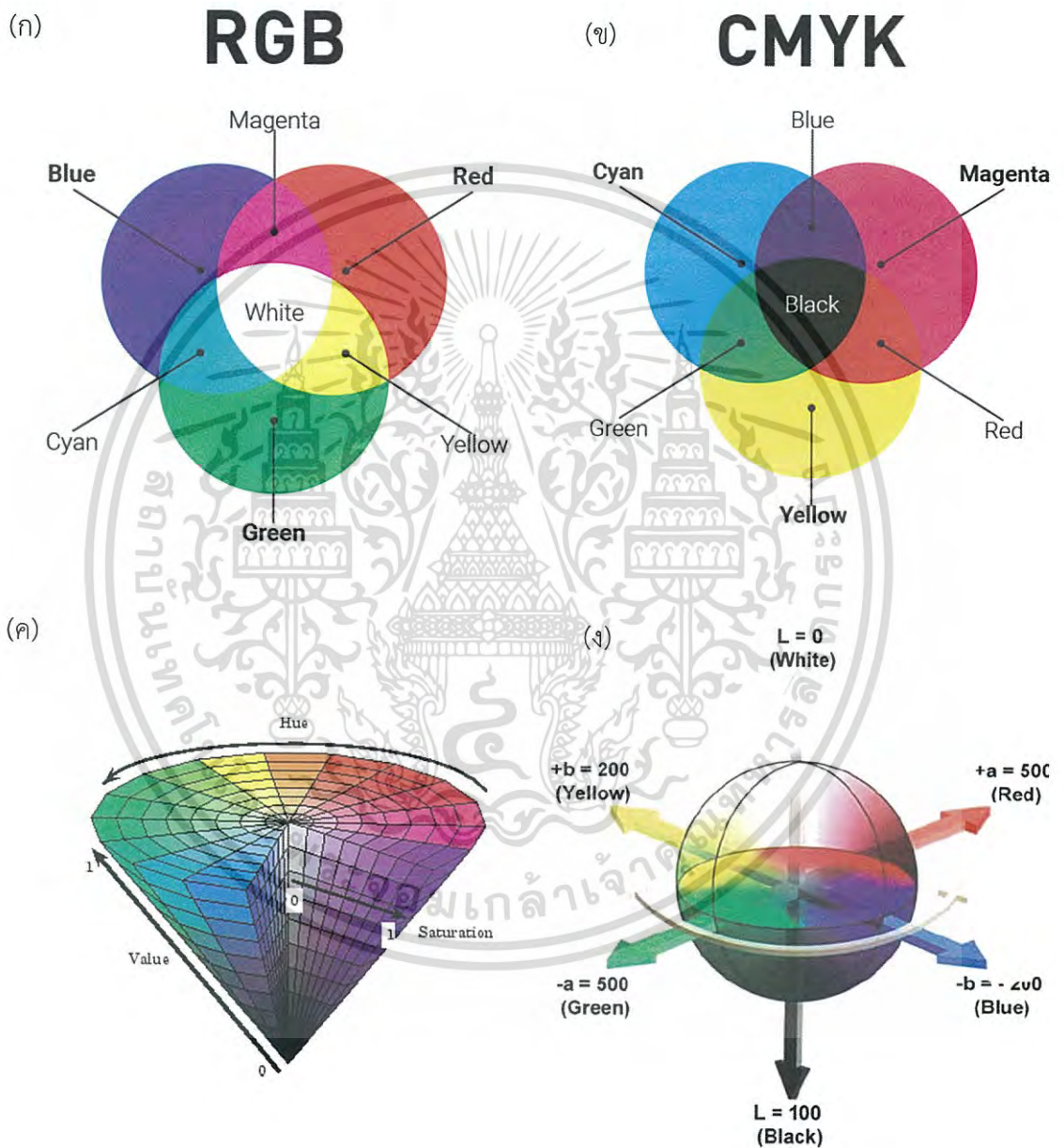
สี (Color) หมายถึง ลักษณะของแสงที่ปรากฏแก่สายตา ซึ่งเกิดจากการสะท้อนของแสงที่ตกกระทบกับวัตถุแล้วเกิดการหักเหของแสงสเปกตรัม ซึ่งปรากฏให้เห็นเมื่อแสงส่องผ่านตัวกลาง เช่น ละอองไอน้ำในอากาศ หรือ แท่งแก้วปริซึม จะเกิดการแยกความยาวคลื่นแสงทำให้ปรากฏเป็นสีต่างๆ รวม 7 สี ได้แก่ สีแดง ม่วง ส้ม เหลือง น้ำเงิน คราม และเขียว โดยการรับรู้สีของมนุษย์เกิดจากการมองเห็น โดยใช้ตาเป็นอวัยวะรับสัมผัส ตาจะตอบสนองต่อแสงสีต่างๆ โดยเฉพาะแสงสว่างทำให้มองเห็น ซึ่งเริ่มจากแสงสะท้อนจากวัตถุผ่านเข้านัยน์ตา ความเข้มของแสงสว่างมีผลต่อการเห็นสี และความคมชัดของวัตถุ หากความเข้มของแสงสว่างปกติจะทำให้มองเห็นวัตถุชัดเจน แต่หากความเข้มของแสงสว่างมีน้อยหรือมืด จะทำให้มองเห็นวัตถุนั้นไม่ชัดเจนหรือพร่ามัว

สีในธรรมชาติและสีที่สร้างขึ้นจะมีรูปแบบการมองเห็นของสีที่แตกต่างกัน ซึ่งรูปแบบการมองเห็นสีในงานด้านกราฟิกคอมพิวเตอร์ มีรายละเอียดหลายประการเป็นลักษณะเฉพาะซึ่งเกี่ยวข้องกับ การแสดงผลแสงที่แสดงบนจอคอมพิวเตอร์ โดยมีลักษณะการแสดงผลคือ ถ้าไม่แสดงผลสีใดเลย บนจอภาพจะแสดงเป็น "สีดำ" หากสีทุกสีแสดงผลพร้อมกัน จะเห็นสีบนจอภาพเป็น "สีขาว" ส่วนสีอื่นๆ เกิดจากการแสดงสีมีค่าแตกต่างกัน

โดยทั่วไประบบสี (Color Model) มี 4 ระบบ ประกอบด้วย 1) ระบบสีแบบ RGB ตามหลักการแสดงสีของเครื่องคอมพิวเตอร์ 2) ระบบสีแบบ CMYK ตามหลักการแสดงสีของเครื่องพิมพ์ 3) ระบบสีแบบ HSB ตามหลักการมองเห็นสีของสายตามนุษย์ และ 4) ระบบสีแบบ  $L^*a^*b^*$  ตามมาตรฐานความสว่าง CIE ซึ่งการตรวจวัดหาปริมาณครีโอะตินินในปัสสาวะ โดยการใช้อนุภาคทองระดับนาโนมาประยุกต์ใช้เป็นตัวตรวจวัดทางสีบนชุดอุปกรณ์ตรวจวัดที่ทำจากกระดาษซึ่งพัฒนาในโครงการพิเศษนี้ จะทำการบันทึกภาพการเปลี่ยนสีของอุปกรณ์ตรวจวัดผ่านกล้องโทรศัพท์ เพื่อตรวจวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม ImageJ ทำการวิเคราะห์ด้วยระบบสี RGB ที่มีช่วงคลื่นที่สายตาค่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์การเขียนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

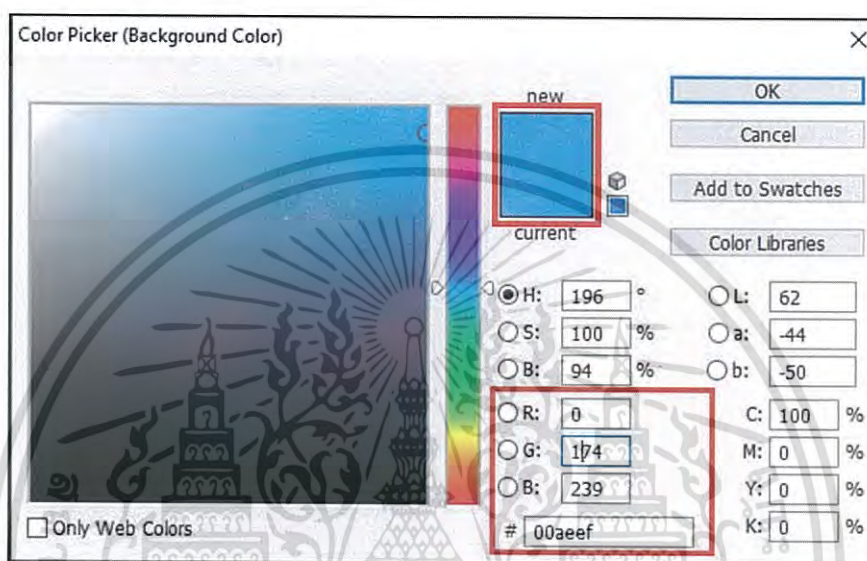
สามารถมองเห็นได้ ประกอบด้วย 3 สี คือ สีแดง ( Red ) สีเขียว ( Green ) และ สีน้ำเงิน ( Blue ) ทั้งสามสีถือเป็นแม่สีของแสง เมื่อนำมาฉายรวมกันจะทำให้เกิดสีใหม่ อีก 3 สี คือ สีแดง (Magenta) สีฟ้า (Cyan) และสีเหลือง (Yellow) ถ้าฉายแสงสีทั้งหมดรวมกันจะได้แสงสีขาว จากคุณสมบัติของแสง จึงได้นำมาใช้ประโยชน์ทั่วไปในการถ่ายภาพ บันทึกภาพวิดีโอ ภาพโทรทัศน์ การนำเสนอบนจอคอมพิวเตอร์ เป็นต้น



รูปที่ 2.13 แสดงระบบสี Color Model (ก) ระบบสีแบบ RGB (ข) ระบบสีแบบ CMYK [18]  
(ค) ระบบสีแบบ HSB [19] (ง) ระบบสีแบบ L\*a\*b\* [20]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สีในระบบ RGB นั้นจะเป็นการกำหนดค่าตัวเลข 3 ค่า โดยจะเป็นค่ากำหนดความเข้มแสง เพื่อให้เกิดแสงในปริมาณต่างๆ ของสีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน ซึ่งการกำหนดค่าสีทั้ง 3 นั้นสามารถแสดงเฉดสีได้ถึง 16 ล้านสี โดยแต่ละสีจะมีค่าตั้งแต่ 0 – 255 ซึ่งเป็นตัวเลขในระบบดิจิทัล สำหรับตัวเลข 0 แสดงว่าความเข้มแสงต่ำ เมื่อตัวเลขเพิ่มสูงขึ้นความเข้มแสงก็จะเพิ่มขึ้น จนถึงตัวเลข 255 แสดงความเข้มสูงสุดของ สีแดง สีเขียว และสีน้ำเงินตามลำดับ เช่น R = 0 G= 174 B= 239 หมายถึงโค้ดสี #00aeef แสดงดังรูปที่ 2.14



รูปที่ 2.14 แสดงตัวอย่างการกำหนดค่าสีในระบบ RGB [21]

## 2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.5.1 งานวิจัยเกี่ยวกับการสังเคราะห์อนุภาคทองคำและการประยุกต์ใช้

Nan Gao และคณะ [22] ได้ทำการพัฒนาวิธีการตรวจวัดเมลามีนให้มีความถูกต้อง แม่นยำ มีประสิทธิภาพและมีความจำเพาะเจาะจงสูง ด้วยวิธีการตรวจวัดทางสี (Colorimetric method) โดยใช้ Citrate-stabilized gold-nanoparticles (AuNPs) และเติม Triton x-100 เพื่อช่วยในการกระจายตัวพร้อมทั้งรักษาเสถียรภาพให้กับอนุภาคทองระดับนาโน ผลการทดลองพบว่าเมื่อทำการเติมเมลามีนลงไป ส่งผลให้อนุภาคทองระดับนาโนเกิดการรวมตัวกัน ทำให้ Triton x-100 หลุดออกห่างจากอนุภาคทอง เนื่องจากเมลามีนเกิดการแลกเปลี่ยนลิแกนด์กับไอออนลบของซิเตรทบนพื้นผิวของอนุภาคทองระดับนาโน โดยสีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีน้ำเงิน ค่าการดูดกลืนแสงจะเคลื่อนจาก 520 นาโนเมตร ไปยัง 630 นาโนเมตร ซึ่งสัมพันธ์กับความเข้มข้นของเมลามีน งานวิจัยนี้มีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ที่ 0.75 – 1.75 ไมโครโมลาร์ และมีขีดจำกัดต่ำสุดของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจวัดเท่ากับ 5.1 นาโนโมลาร์ นอกจากนี้ในงานวิจัยยังประสบความสำเร็จในการตรวจวัดเมลามีนในน้ำนม โดยใช้อนุภาคทองระดับนาโนที่ถูกตรึงบนกระดาษเป็นเซ็นเซอร์ตรวจวัดทางสี และทำการประมวลผลภาพถ่ายจากกล้องโทรศัพท์ผ่านการวิเคราะห์สีในระบบ RGB ซึ่งถือว่าเป็นวิธีที่สะดวกรวดเร็ว ใช้ง่ายและเครื่องมือไม่ซับซ้อน

Peng-Cheng Huang และคณะ [23] ได้ทำการพัฒนาวิเคราะห์หาปริมาณเมไทโอนีนทั้งในเลือดและปัสสาวะ โดยอาศัยหลักการกีดกันการรวมตัวกัน (Anti-aggregation) ของอนุภาคทองระดับนาโนกับเมลามีน โดยทั่วไปเมลามีนสามารถเหนี่ยวนำให้อนุภาคทองระดับนาโนเกิดการรวมตัวกันได้เป็นอย่างดี ผ่านการแลกเปลี่ยนลิแกนด์ระหว่างหมู่เอมีน (-NH) กับกับประจุลบของซิเตรทบนพื้นผิวของอนุภาคทอง ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีจากสีแดงเป็นสีน้ำเงิน ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดอยู่ที่ 650 นาโนเมตร เมื่อทำการเติมเมไทโอนีนลงไปจะเข้าไปขัดขวางเมลามีนไม่ให้อ่อนไหวต่ออนุภาคทองระดับนาโนให้เกิดการรวมตัวกัน ส่งผลให้สีของสารละลายเปลี่ยนกลับจากสีน้ำเงินเป็นสีแดง ค่าการดูดกลืนที่ 650 นาโนเมตรลดลง และที่ 520 นาโนเมตร เพิ่มขึ้น โดยงานวิจัยนี้มีช่วงความเป็นเส้นตรง 0 - 1.0 ไมโครโมลาร์ และมีขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเท่ากับ 24.5 นาโนโมลาร์

Xuwang Zhang และคณะ [24] ได้พัฒนาวิธีการตรวจวัดหาสำหรับปริมาณปรอท Hg (II) โดยใช้อนุภาคทองระดับนาโนที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นจากยีสต์ ตระกูล *Magnusiomyces* LH-F1 ซึ่งมีความไวต่อปรอทสูง เมื่ออยู่ร่วมกับกับไอออนโลหะชนิดอื่นๆ เช่น Cd (II), Cu (II), Ni (II), เป็นต้น ซึ่งสามารถพบได้ในแหล่งน้ำ พื้นดิน และอากาศ โดยอนุภาคทองระดับนาโนที่สังเคราะห์ขึ้นนี้มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดอยู่ที่ 532 นาโนเมตร เมื่ออนุภาคทองทำปฏิกิริยากับปรอทจะส่งผลให้ Surface plasmon band เกิดการเคลื่อนไปทางความยาวคลื่นลดลง (Blue shift) จาก 532 นาโนเมตรเคลื่อนไปยัง 525 นาโนเมตร โดยที่ขนาดและสีของอนุภาคทองระดับนาโนจะไม่เปลี่ยนแปลงไป โดยงานวิจัยที่พัฒนาขึ้น มีช่วงความเป็นเส้นตรง 2 ช่วงคือ 1.0 - 50 ไมโครโมลาร์ ซึ่งมีอัตราส่วน  $A_{525}/A_{532}$  เพิ่มขึ้น และที่ 100 - 500 ไมโครโมลาร์ อัตราส่วน  $A_{525}/A_{532}$  จะลดลง ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเท่ากับ 0.1 ไมโครโมลาร์ แต่ถ้าความเข้มข้นของปรอทสูงกว่า 900 ไมโครโมลาร์ จะทำให้อนุภาคเกิดการรวมตัวกันส่งผลให้ Surface plasmon band เกิดการเคลื่อนที่ไปทางความยาวคลื่นเพิ่มขึ้น (Red shift) สีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีชมพู

Gongke Wang และคณะ [25] ทำการศึกษาและพัฒนาวิธีการกำจัดซิลเวอร์ไอออนซึ่งเป็นสารพิษที่มีมากในสภาพแวดล้อม โดยใช้ DNA-stabilized gold-nanoparticles เป็นเซ็นเซอร์ในการตรวจวัดสัญญาณการเรืองแสง (fluorescence polarization) ซึ่งซิลเวอร์ไอออนสามารถ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จับกับไซโทซีน (Cytosine) ของสาย DNA ได้เป็นอย่างดี cytosine-Ag<sup>+</sup>-cytosine (C-Ag<sup>+</sup>-C) เป็นผลให้ขนาดโมเลกุลเปลี่ยนแปลงไป ส่งผลให้ค่า fluorescence polarization เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของซิลเวอร์ไอออน ซึ่งถือเป็นวิธีที่มีความไวและจำเพาะเจาะจงกับซิลเวอร์ไอออน โดยใช้ระยะเวลาในการตรวจวัดประมาณ 6 นาที โดยงานวิจัยที่พัฒนาขึ้นนี้มีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ที่ 50 – 750 นาโนโมลาร์และมีขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเท่ากับ 9.5 นาโนโมลาร์

ตารางที่ 2.1 สรุปการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวกับการสังเคราะห์อนุภาคทองคำและการประยุกต์ใช้

Techniques	Reagent	Working range	LOD	References
Colorimetric method	Citrate-AuNPs	0.75 – 1.75 $\mu$ M	5.1 nM	[22]
Colorimetric method	Citrate-AuNPs	0 – 1.0 $\mu$ M	24.5 nM	[23]
Colorimetric method	Cell-free extracts AuNPs	1.0 – 50 $\mu$ M and 100 – 500 $\mu$ M	0.1 $\mu$ m	[24]
Fluorescence	DNA-AuNPs	50 – 750 nM	9.5 nM	[25]

### 2.5.2 งานวิจัยที่เกี่ยวกับการตรวจวัดด้วยกระดาษโดยใช้อนุภาคทองคำ

Jian-feng Guo และคณะ [26] ทำการพัฒนาวิธีการตรวจวัดหาปริมาณโครเมต (VI) ไอออน ด้วยวิธีการตรวจวัดทางสี (Colorimetric method) บนอุปกรณ์ตรวจวัดที่ทำจากกระดาษที่ผ่านการปรับปรุงคุณสมบัติด้วย Silanization-titanium dioxide และทำการตรึงอนุภาคทองคำระดับนาโนที่ทำให้เสถียรด้วย Bovine serum albumin (BSA-AuNPs) โดยในการตรวจวัดจะทำการเติมกรดไฮโดรโบรมิกเข้มข้น 1 โมลาร์ ลงไป เพื่อช่วยเร่งให้โครเมต (VI) ไอออน ออกซิไดซ์อนุภาคทอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระดับนาโน เกิดเป็นโครเมต (III) ไอออน และเกิดสารประกอบ  $\text{AuBr}_2^-$  ขึ้น ทำให้จำนวนของอนุภาคทองระดับนาโนลดลง ส่งผลให้กระดาษมีสีจางลงเมื่อปริมาณของโครเมต (III) ไอออนเพิ่มขึ้น และทำการถ่ายภาพด้วยกล้องโทรศัพท์มือถือ ทำการวิเคราะห์ภาพถ่ายด้วยระบบสี RGB เพื่อหาความเข้มข้นของสาร ซึ่งงานวิจัยที่พัฒนาขึ้นนี้มีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ที่ 0.5 – 50 ไมโครโมลาร์ และมีขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเท่ากับ 280 นาโนโมลาร์

Jarinya Sittiwong [27] นำเสนอวิธีการตรวจวัดครีอะตินินในตัวอย่างปัสสาวะของมนุษย์ ด้วยวิธีเทียบสี 2 วิธีคือ การใช้อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองคำและปฏิกิริยาจอฟเฟ (Jaffe reaction) บนกระดาษ สำหรับวิธีการตรวจวัดครีอะตินินด้วยอนุภาคทองระดับนาโนจะทำการเตรียมตัวอย่างโดยการสกัดสารด้วยวิธี Solid phase extraction เพื่อแยกครีอะตินินออกจากเมทริกซ์รบกวนในตัวอย่างปัสสาวะก่อนทำการตรวจวัดด้วยอนุภาคทองระดับนาโน ซึ่งประจุบวกของหมู่อะมิโน ( $-\text{NH}_2$ ) บนครีอะตินินจะเหนี่ยวนำให้เกิดการรวมตัวกันของอนุภาคทองระดับนาโน ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายจากสีแดงเป็นสีม่วง งานวิจัยนี้มีช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วง 15 - 40 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเท่ากับ 13.7 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับการตรวจวัดครีอะตินินด้วยปฏิกิริยาของจอฟเฟบนกระดาษจะทำการเคลือบกระดาษกรองด้วย 3-polysulfonic acid dimethoxysilane ก่อนนำไปใช้ในการตรวจวัด โดยการตรวจวัดจะใช้วิธีมาตรฐานของจอฟเฟ การเปลี่ยนแปลงสีบนกระดาษกรองสามารถวิเคราะห์ได้ด้วยโปรแกรม ImageJ โดยช่วงความเป็นเส้นตรงของวิธีการตรวจวัดอยู่ในช่วง 0 - 60 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าร้อยละการกลับคืนของครีอะตินินจากตัวอย่าง (%Recovery) อยู่ในช่วง 91.9-113.8 และมีค่าความเที่ยงในของการวิเคราะห์ (%RSD) เท่ากับ 8.6

Li Jun-jie และคณะ [28] ทำการพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณเหล็ก Fe (III) ในเลือดโดยใช้วิธีการตรวจวัดทางสี (Colorimetric method) ในการตรวจวัดบนกระดาษที่ถูกปรับปรุงคุณสมบัติของพื้นผิวเพื่อให้ความจำเพาะเจาะจงมากยิ่งขึ้น โดยทำการเคลือบกระดาษด้วยไทเทเนียมออกไซด์ ( $\text{TiO}_2$ ) ร่วมกับสารประกอบประเภท Hydrophobic+hydrophilic ในการปรับปรุงเนื้อกระดาษ จากนั้น ทำการเคลือบสารจำพวกหมู่เอมีน ( $-\text{NH}_2$ ) และไทออล ( $-\text{SH}$ ) อีกชั้น เพื่อให้อนุภาคทองระดับนาโน ถูกตรึงบนกระดาษได้ดียิ่งขึ้น ในการทดลองจะทำการเติมกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ เพื่อช่วยเร่งให้เหล็กสามารถออกซิไซด์อนุภาคทองระดับนาโนแล้วเกิดสารประกอบ  $\text{Au}[\text{SC}(\text{NH}_2)_2]^{2+}$  ได้เร็วขึ้นส่งผลให้กระดาษกรองนั้นมีสีจางลงตามความเข้มข้นของเหล็กที่เพิ่มขึ้น ทำการบันทึกภาพถ่ายและทำการวิเคราะห์ผลด้วยระบบสี RGB โดยงานวิจัยที่พัฒนาขึ้นนี้มีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ที่ 1.0 – 37 ไมโครโมลาร์ และมีขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเท่ากับ 0.85 ไมโครโมลาร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Guan-Hua Chen และคณะ [29] ทำการพัฒนาวิธีการตรวจวัดที่มีความจำเพาะเจาะจงกับสารปรอท Hg (II) ในแหล่งน้ำ โดยใช้บนอุปกรณ์ตรวจวัดที่ทำจากกระดาษ ในการทดลองนั้น จะใช้อนุภาคทองระดับนาโนที่ปรับปรุงพื้นผิวด้วย DNA เป็นรีเอเจนต์ในการตรวจวัดทางสี เมื่อทำการเติมปรอทลงไป เบสไทมีน (Thymine) จะเข้าไปจับกับปรอท ( $T-Hg^{2+}-T$ ) ส่งผลให้ DNA ไม่สามารถรักษาเสถียรภาพอนุภาคทองได้ ส่งผลให้เกิดการรวมตัวกัน สีของสารละลายเปลี่ยนจากสีแดงเป็นน้ำเงินตามความเข้มข้นของปรอท และนำสารละลายไปหยดลงบนกระดาษทำการบันทึกภาพผ่านกล้องโทรศัพท์มือถือ และวิเคราะห์ภาพถ่ายผ่านระบบสี RGB โดยงานวิจัยที่พัฒนาขึ้นนี้มีขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเท่ากับ 50 นาโนโมลาร์

ตารางที่ 2.2 สรุปการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการตรวจวัดด้วยกระดาษโดยใช้อนุภาคทองนาโน

Techniques	Reagent	Working range	LOD	References
Colorimetric method	BSA-AuNPs	0.5 – 50 $\mu$ M	280 nM	[26]
Colorimetric method	Citrate-AuNPs	0 – 60 ppm	-	[27]
Colorimetric method	Chitosan-AuNPs	1.0 – 37 $\mu$ M	0.85 $\mu$ M	[28]
Fluorescence	DNA-AuNPs	-	50 nM	[29]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.5.3 งานวิจัยที่เกี่ยวกับการวิเคราะห์หาปริมาณครีอะตินินในปัสสาวะ

Yi He และคณะ [30] ได้พัฒนาวิธีการที่มีความจำเพาะเจาะจงและความไวสำหรับการตรวจวัดหาปริมาณครีอะตินินโดยการใช้ Citrate-stabilized Gold-nanoparticles (AuNPs) เป็นตัวตรวจวัดสี โดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยาแบบโครงสร้างร่างแหระหว่างครีอะตินินกับอนุภาคทองระดับนาโน ทำให้เกิดการรวมตัวของอนุภาคทองส่งผลให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 520 นาโนเมตรลดลง และที่ 670 นาโนเมตรเพิ่มขึ้น สีของสารละลายเปลี่ยนจากสีแดงไวน์เป็นสีม่วงค่าการดูดกลืนแสงมีความสัมพันธ์กันกับความเข้มข้นของครีอะตินิน ในช่วง 0.1 -20 มิลลิโมลาร์ และมีขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดได้เท่ากับ 80 ไมโครโมลาร์ โดยงานวิจัยนี้สามารถตรวจวัดปริมาณครีอะตินินได้ดีกว่าวิธีมาตรฐานดั้งเดิม คือวิธีของ Jaffe method (720 มิลลิโมลาร์)

Eloisa Liotta และคณะ [31] ได้ทำการพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณครีอะตินินในปัสสาวะโดยอาศัยเทคนิคการแยกสารผ่านเคลื่อนที่ภายใต้สนามไฟฟ้า (Capillary electrophoresis) ในการทดลองจะทำการเติม imidazole ที่ใช้เป็น Internal standard ผสมกับสารตัวอย่างก่อนฉีดเข้าเครื่อง CE โดยใช้ mobile phase เป็นสารละลายผสมระหว่างโมโนโซเดียมฟอสเฟตกับอะซิติกแอซิด ทำการควบคุมการไหลระบบภายใต้ศักย์ไฟฟ้า 25 กิโลโวลต์ และใช้ UV เป็น Detector ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 200 นาโนเมตร โดยงานวิจัยที่พัฒนาขึ้นนี้มีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.2 – 32 มิลลิโมลาร์ ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเท่ากับ 0.05 มิลลิโมลาร์

Pinkesh G.Sutariya และคณะ [32] ได้ทำการพัฒนาวิธีหาปริมาณครีอะตินินในปัสสาวะด้วยวิธีการตรวจวัดทางสี (Colorimetric method) โดยการใช้สารประกอบ calix[4]arene หรือ pSDSC4 เป็นตัวรักษาความเสถียรให้อนุภาคทองระดับนาโน ที่ผ่านการสังเคราะห์ด้วยวิธีไมโครเวฟ (Microwave assisted method) เมื่อ AuNPs-pSDSC4 เจอกับครีอะตินินจะเกิดแรงทางประจุไฟฟ้า (Electrostatic interaction) ระหว่างหมู่ -NH ของครีอะตินิน กับ  $-SO_3^-$  ของ pSDSC4 เหนี่ยวนำให้อนุภาคทองเกิดการรวมตัวกัน ส่งผลให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 522 นาโนเมตร ลดลง และที่ 630 นาโนเมตร เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของครีอะตินิน โดยสีของสารละลายเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีม่วง ซึ่งถือเป็นวิธีมีความไวและมีความเลือกเฉพาะกับครีอะตินิน ใช้เวลาตรวจวัดน้อยกว่า 1 นาที โดยงานวิจัยนี้มีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ที่ 10 - 100 นาโนโมลาร์ และมีขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเท่ากับ 2.6 นาโนโมลาร์

Jarinya Sittiwong และคณะ [33] ได้ทำการพัฒนาวิธีการหาปริมาณครีอะตินินในปัสสาวะด้วยวิธีการตรวจวัดทางสี (Colorimetric method) โดยทำการสกัดครีอะตินินออกจากปัสสาวะด้วยวิธี Solid phase extraction โดยอาศัยหมู่ sulfonic acid functionalized silica gel

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก่อนนำไปผสมกับอนุภาคทองระดับนาโน ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่อง UV-Visible Spectrophotometer ซึ่งเวลาที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาอยู่ที่ 3 นาที ผลการทดลองพบว่า ตัวอย่างที่ผ่านการสกัดจะให้สัญญาณของการดูดกลืนแสงที่ดีกว่าตัวอย่างที่ไม่ผ่านการสกัด โดยครีอะตินินจะเหนี่ยวนำให้อนุภาคทองระดับนาโนเกิดการรวมตัวกันส่งผลให้สัญญาณ Surface plasmon band เกิดการ shift ความยาวคลื่นที่ 520 นาโนเมตรลดลงและที่ 670 นาโนเมตร เพิ่มขึ้น สีของสารละลายเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีม่วง โดยงานวิจัยนี้มีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 15 - 40 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเท่ากับ 13.7 มิลลิกรัมต่อลิตร

Saima Hanif และคณะ [34] ได้ทำการหาปริมาณครีอะตินินในปัสสาวะโดยอาศัยหลักการเรืองแสง (Chemiluminescence) โดยการนำปัสสาวะตัวอย่าง (เจือจาง 1000 เท่า) ทำปฏิกิริยากับ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ( $H_2O_2$ ) และใช้โคบอลต์ Co (II) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เพื่อให้เกิดการเรืองแสงมากขึ้น ทำการทดลองผ่านระบบ Flow injection analysis (FIA) โดยใช้ Photomultiplier tube เป็น Detector ผลการทดลองพบว่า ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นมีค่าการคายแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 460 นาโนเมตร มีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ที่  $1 \times 10^{-4}$  -  $3 \times 10^{-2}$  มิลลิโมลาร์ และขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเท่ากับ  $7.2 \times 10^{-2}$  ไมโครโมลาร์ ซึ่งถือว่าเป็นวิธีทางเลือกใหม่สำหรับการตรวจหาครีอะตินินในปัสสาวะที่สะดวก รวดเร็ว โดยไม่จำเป็นต้องใช้เอมไซม์หรืออาศัยเทคนิคการแยกต่างๆ

Hong Du และคณะ [35] ได้ทำการเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจวัดหาปริมาณครีอะตินินในปัสสาวะโดยการใช้อนุภาคทองระดับนาโนทำปฏิกิริยากับอะดีโนซีนและซิลเวอร์ไอออน (Adenosine/ $Ag^+$ -AuNPs) เพื่อเพิ่มความเลือกเฉพาะกับครีอะตินินในปัสสาวะ ผลการทดลองพบว่า ครีอะตินินทำให้อนุภาคทองระดับนาโนเกิดการรวมตัวกันส่งผลให้สัญญาณ Surface plasmon band เกิดการ shift ทำให้ความยาวคลื่นที่ 520 ลดลงและที่ 630 nm เพิ่มขึ้น โดยสีของสารละลายเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีม่วง โดยที่ Adenosine/ $Ag^+$ -AuNPs จะไม่เกิดการรวมตัวกัน เมื่อเจอกับตัวรบกวนอื่นๆ ในปัสสาวะเช่น น้ำตาลกลูโคส กรดยูริก เมลามีน โปแทสเซียมไอออน คลอไรด์ไอออน กรดอะมิโน hydantoin, 1-methyl hydantoin, N-hydroxysuccinimide (NHS) และ creatine เป็นต้น งานวิจัยนี้มีขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดเท่ากับ 12.7 นาโนโมลาร์

Melisew Tadele Alula และคณะ [36] ได้ทำการพัฒนาวิธีการหาปริมาณครีอะตินินในปัสสาวะด้วยวิธีการตรวจวัดทางสี (Colorimetric method) โดยใช้อนุภาคซิลเวอร์นาโนที่ถูกตรึงด้วยไซเตียมซีเตรท ทำปฏิกิริยากับปัสสาวะตัวอย่าง (เจือจาง 2 เท่า) ภายใต้สภาวะเบส pH 12 ทำการตั้งสารทิ้งไว้เป็นเวลา 1 นาที ก่อนนำไปทำการตรวจวัดด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer ผลการทดลองพบว่า ครีอะตินินทำให้อนุภาคซิลเวอร์นาโนเกิดการรวมตัวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่งผลให้สัญญาณ Surface plasmon band เกิดการ shift ไป ทำให้ความยาวคลื่นที่ 403 nm ลดลง และที่ 670 nm เพิ่มขึ้น สีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นม่วงเข้ม งานวิจัยที่พัฒนาขึ้นนี้มีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0 - 4.2 มิลลิโมลาร์ และขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดเท่ากับ 53.4 นาโนโมลาร์ ซึ่งถือได้ว่าเป็นวิธีที่สะดวก ใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยและมีความแม่นยำสูง

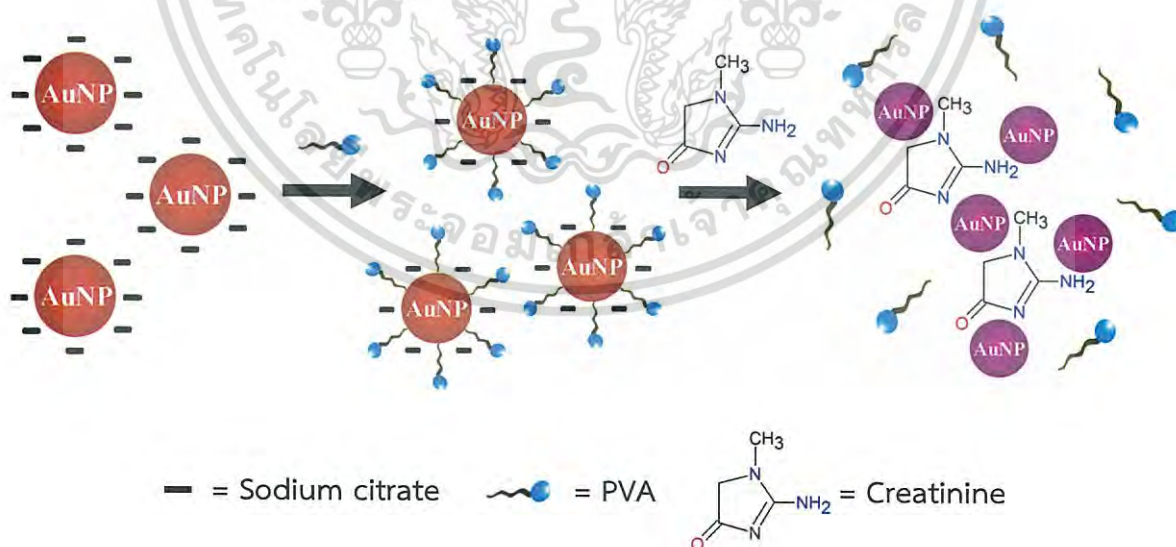
ตารางที่ 2.3 สรุปการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการตรวจหาปริมาณครีอะตินินในปัสสาวะ

Techniques	Reagent	Working range	LOD	References
Colorimetric method	Citrate-AuNPs	0.1 -20 mM	80 $\mu$ M	[30]
Capillary electrophoresis	Imidazole	0.2-32 mM	50 nM	[31]
Colorimetric method	pSDSC4-AuNPs	10 – 100 nm	2.6 nm	[32]
Colorimetric method	Citrate-AuNPs	15 - 40 mg/L	13.7 mg/L	[33]
Chemiluminescence	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /Co <sup>2+</sup>	0.1 – 30 $\mu$ M	72 nM	[34]
Colorimetric method	AuNPs/ Adenosine/Ag <sup>+</sup>	0.2-1.4 $\mu$ M	12.7 nM	[35]
Colorimetric method	Citrate-AgNPs	0 - 4.2 mM	53.4 nM	[36]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.6 หลักการตรวจวัดในโครงการวิจัยนี้

โครงการวิจัยนี้ได้ทำการพัฒนาวิธีการตรวจวัดหาปริมาณครีเอตินินในปัสสาวะเพื่อใช้เป็นตัวบ่งชี้และประเมินภาวะเสี่ยงต่อการเป็นโรคไต โดยการใช้อนุภาคทองระดับนาโนที่สังเคราะห์ขึ้นด้วยวิธีของ Turkevich method มาประยุกต์ใช้เป็นตัวตรวจวัดทางสี สำหรับการตรวจวัดปริมาณครีเอตินินในปัสสาวะ บนชุดอุปกรณ์ตรวจวัดที่ทำจากกระดาษ โดยอนุภาคทองนาโนที่สังเคราะห์ได้จะมีซีเทรตไอออนล้อมรอบอนุภาค และจะทำการ Centrifuge ให้มีความเข้มข้นสูงขึ้นแล้วทำ Post-modification ด้วยการเติมโพลีไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) ซึ่งใช้เป็นสารสำหรับรักษาเสถียรภาพของอนุภาคทองระดับนาโนเพื่อไม่ให้เกิดการรวมตัวก่อนนำไปใช้ (Self-aggregation) [37] หลังจากเติม PVA แล้วจะเกิดการแลกเปลี่ยนระหว่างไอออนซีเทรต ที่ยึดเกาะบนพื้นผิวอนุภาคทองนาโนอย่างอ่อนๆ กับ PVA เมื่อทำการหยดครีเอตินินลงบนกระดาษจะทำให้อนุภาคทองเกิดการรวมตัวกันและ PVA หลุดออกจากอนุภาคทองนาโน ส่งผลให้กระดาษเกิดการเปลี่ยนสีจากสีแดงไปเป็นสีม่วงตามความเข้มข้นของครีเอตินิน เนื่องจาก PVA นั้นยึดเกาะบนพื้นผิวของอนุภาคทองนาโนด้วยแรงทางกายภาพ เมื่อทำการเติมครีเอตินินลงไป ไนโตรเจนในโครงสร้าง Hybrid aromatic ของครีเอตินิน ซึ่งมีความสามารถในการยึดเกาะกับอนุภาคทองนาโนได้ดีกว่า จึงเกิดการแทนที่ PVA ส่งผลให้เกิดการยึดเกาะระหว่างครีเอตินินกับอนุภาคทองนาโนด้วยแรง Coordination interaction [30] โดยกลไกการตรวจวัดสามารถแสดงดังรูปที่ 2.15



รูปที่ 2.15 แสดงกลไกในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างอนุภาคทองนาโนกับครีเอตินินโดยใช้ PVA เป็นตัวรักษาเสถียรภาพ [38]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 3

### วิธีการดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

##### 3.1.1 สารเคมี

ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	ยี่ห้อและประเทศผู้ผลิต
Gold(III) chloride trihydrate	$\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	Sigma-Aldrich, USA
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, Japan
Sodium dihydrogen orthophosphate	$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Analytical reagent, New Zealand
Creatinine	$\text{C}_4\text{H}_7\text{N}_3\text{O}$	Sigma-Aldrich, China
Poly(Vinyl alcohol)	$(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_n$	Sigma-Aldrich, USA
Sodium phosphate dibasic anhydrous	$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	RANKEM, Analytical reagent, India
Sodium hydroxide pellets	$\text{NaOH}$	SDFCL, Analytical reagent, India
Hydrochloric acid	$\text{HCl}$	Cario Erba reagent, Spain
Nitric acid	$\text{HNO}_3$	PanReac AppliChem, Spain

##### 3.1.2 วัสดุ อุปกรณ์และเครื่องมือตรวจวัด

1. ปีกเกอร์
2. ขวดปรับปริมาตร
3. ขวดรูปชมพู่
4. จานเพาะเชื้อ
5. แท่งแก้ว
6. กระจกนาฬิกา
7. หลอดหยด
8. ขวดสีชา
9. ขวดสีขาวขุ่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10. ไมโครปิเปต
11. นาฬิกาจับเวลา
12. กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1, 2 และ 3
13. หลอดสำหรับปั่นเหวี่ยง
14. เทอร์โมมิเตอร์
- 15 เครื่อง Vertex
- 16 เครื่อง Sonicate
17. เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ Hitachi Model u-2900
18. เครื่องทำน้ำปราศจากไอออน (DI water) Zeneer up 9000
19. เครื่องวัด pH, Mettler Toledo, FEP20

### 3.2 การเตรียมสารละลาย

สารละลายทุกตัวเตรียมจากน้ำกลั่นปราศจากไอออนที่ได้จากเครื่อง ZENEER UP 900 และสารเคมีทุกตัวเป็นเกรดวิเคราะห์ (Analytical reagent grade)

#### 3.2.1 การเตรียมสารละลายในการสังเคราะห์อนุภาคของระดับนาโน

3.2.1.1 สารละลายไฮโดรเจนเตตระคลอโรอูริก ( $\text{HAuCl}_4$ ) ความเข้มข้น 1.0 มิลลิโมลาร์

ละลาย  $\text{HAuCl}_4$  0.0394 กรัม ด้วยน้ำปราศจากไอออนแล้วปรับปริมาตรในขวดวัดปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร

3.2.1.2 สารละลายโซเดียมซิเตรทไตรเบสิกไดไฮเดรท ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) ความเข้มข้น 38.8 มิลลิโมลาร์

ละลายโซเดียมซิเตรทไตรเบสิกไดไฮเดรท 0.5706 กรัม ด้วยน้ำปราศจากไอออนแล้วปรับปริมาตรในขวดวัดปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตร

#### 3.2.2 การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการตรวจวัดครีอะตินินด้วยอนุภาคของระดับนาโน โดยใช้เทคนิค UV-VIS Spectrophotometry

3.2.2.1 สารละลาย 10 มิลลิโมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 6

ซังโมนโซเดียมฟอสเฟต 0.3900 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจำนวน 230 มิลลิลิตร จากนั้นเติมไดโซเดียมฟอสเฟต 0.3550 กรัม คนให้ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนให้เป็น 250 มิลลิลิตร แล้วนำไปทำการปรับค่าพีเอชให้ได้เท่ากับ 6 ด้วย 1 โมลาร์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ หรือ 1 โมลาร์ ไฮโดรคลอริก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานครีอะตินิน ความเข้มข้น 0, 1, 5, 10, 50, 100, 200 มิลลิกรัมต่อลิตร

เตรียมสารละลายมาตรฐานครีอะตินิน ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยทำการละลายครีอะตินิน 0.0500 กรัม ด้วยน้ำปราศจากไอออน แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตร จากนั้นทำการปิเปตสารละลายมาตรฐานครีอะตินิน ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร มา 0, 0.01, 0.05, 0.10, 0.50, 1 และ 2 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนในขวดวัดปริมาตร 10 มิลลิลิตร จะได้สารมาตรฐานครีอะตินินเข้มข้น 0, 1, 5, 10, 50, 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร

### 3.2.3 การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการตรวจวัดครีอะตินินด้วยอนุภาคของระดับนาโนบนกระดาษ

3.2.3.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานครีอะตินิน ความเข้มข้น 0, 10, 50, 100, 300, 500 มิลลิกรัมต่อลิตร

เตรียมสารละลายมาตรฐานครีอะตินิน ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยชั่งครีอะตินิน 0.0500 กรัม นำมาละลายด้วย 10 มิลลิโมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 6 ปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร ทำการปิเปตสารละลายมาตรฐานครีอะตินิน ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร มา 0, 0.1, 0.5, 1, 3, 5 มิลลิลิตร ตามลำดับ แล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ พีเอช 6 ในขวดวัดปริมาตร 10 มิลลิลิตร จะได้สารละลายมาตรฐานครีอะตินิน ความเข้มข้น 0, 10, 50, 100, 300, 500 มิลลิกรัมต่อลิตร

3.2.3.2 การเพิ่มความเข้มข้นสารละลายอนุภาคของระดับนาโน 10 เท่า

ปิเปตสารละลายอนุภาคของ 10 มิลลิลิตร ลงใน Centrifuge tube จำนวน 4 หลอด นำไปเข้าเครื่อง Centrifuge ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 12000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นทำการดูดสารละลายชั้นน้ำออก 9 มิลลิลิตร ให้เหลือชั้นน้ำและอนุภาคของระดับนาโน 1 มิลลิลิตร

3.2.3.3 สารละลายโพลีไวนิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 6 % w/v

ชั่งสารโพลีไวนิลแอลกอฮอล์ 3.0000 กรัม แล้วนำไปละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 40 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปให้ความร้อนด้วย Hot plate ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส พร้อมปั่นกวนตลอดเวลาแล้วทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเทใส่ขวดปรับปริมาตร 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

3.2.3.4 การเตรียมอัตราส่วนสารละลายสำหรับการแช่กระดาษกรองเพื่อใช้เป็นอุปกรณ์ตรวจวัด

ตารางที่ 3.1 แสดงอัตราส่วนของสารละลาย (Centrifuged AuNPs : PVA : DI Water)

ขวดที่	Final Conc. PVA (%W/V)	Centrifuged AuNPs ( $\mu$ l)	PVA 6 % W/V ( $\mu$ l)	DI Water ( $\mu$ l)	Total Volume ( $\mu$ l)
1	0.08	1000	16	184	1200
2	0.25	1000	50	150	1200
3	0.50	1000	100	100	1200
4	1.00	1000	200	-	1200

### 3.2.4 การเตรียมอุปกรณ์กระดาษกรองเพื่อใช้ในการตรวจวัด

3.2.4.1 ตัดกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1, 2 และ 3 เป็นวงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 1 เซนติเมตร จากนั้นวางเรียงบนจานเพาะเชื้อ

3.2.4.2 นำสารละลายของผสมในตารางที่ 3.1 มาผสมสารให้เข้ากันด้วยเครื่อง Sonicare เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเทสารละลายผสมลงในจานเพาะเชื้อ ที่มีกระดาษกรองเบอร์ต่างๆ วางอยู่ โดยให้กระดาษจมอยู่ใต้สารละลายทั้งแผ่น แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดนำกระดาษที่แช่ในสารละลายออกมาจัดเรียงและทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง

### 3.2.5 การเตรียมตัวอย่างปัสสาวะ

ทำการปิเปตตัวอย่างปัสสาวะมา 0.1 มิลลิลิตร แล้วเจือจางด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดของขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร สุดท้ายจะได้ตัวอย่างปัสสาวะที่เจือจาง 10 เท่า

### 3.2.6 การเตรียม Spike sample

ทำการเตรียม Spike sample จำนวน 3 ชุด ดังตารางที่ 3.2 จะได้ Spike sample เข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 3.2 แสดงอัตราส่วนของสารละลาย (Sample : Std. creatinine : DI Water)

Dilute factor	Spike sample Conc. (ppm)	Sample (ml)	Std. creatinine 1000 mg/L	DI Water (ml)	Total Volume (ml)
Pure sample	300	7	3	-	10
Dilute 100 fold	300	0.1	0.3	6.9	10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.3 วิธีดำเนินการทดลอง

#### 3.3.1 การสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโน

ปิเปตสารละลายไฮโดรเจนเตตระคลอโรอูริกปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนพร้อมกับปั่นกวนด้วยแท่งแม่เหล็ก เมื่อสารละลายเดือดที่อุณหภูมิ  $95^{\circ}\text{C}$  เติมสารละลายโซเดียมซิเตรทไฮเดรต ปริมาตร 7.0 มิลลิลิตร ลงไปอย่างรวดเร็วและให้ความร้อนต่อไปอีก 10 นาที โดยปั่นกวนตลอดเวลา เมื่อครบเวลาที่กำหนด นำสารละลายออกมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้องพร้อมปั่นกวนตลอดเวลาต่อไปอีก 30 นาที

#### 3.3.2 ศึกษาการตรวจวัดครีโอะตินินด้วยอนุภาคทองระดับนาโนโดยใช้เทคนิค UV-VIS Spectrophotometry

ทำการเจือจางสารละลายอนุภาคทองระดับนาโน โดยปิเปตสารละลายมา 12.5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนมา 1 มิลลิลิตร และ 10 มิลลิโมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 6 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง ปิเปตสารละลายแบลงค์ที่เตรียมจากน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง นำหลอดทดลองไปเขย่าด้วยเครื่อง Vertex เป็นเวลา 30 วินาที ทำการติดตาม Surface plasmon band ของสารละลายที่ 1 นาทีด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer ในช่วงความยาวคลื่น 400-800 นาโนเมตร ทำซ้ำโดยเปลี่ยนสารละลายมาตรฐานครีโอะตินินความเข้มข้น 1, 5, 10, 50, 100, 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

#### 3.3.3 ศึกษาสภาวะในการตรวจวัดครีโอะตินินด้วยอนุภาคทองระดับนาโนบนกระดาษ

##### 3.3.3.1 ความเข้มข้นของสารละลายโพสโวลีนัลแอลกอฮอล์ที่เหมาะสมในการรักษาเสถียรภาพอนุภาคทองระดับนาโน

นำอุปกรณ์ตรวจวัดที่ตรึงด้วยอนุภาคทองนาโน โดยใช้โพสโวลีนัลแอลกอฮอล์ 0.08 % w/v เป็นตัวรักษาเสถียรภาพ นำมาจัดเรียงและทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนด นำอุปกรณ์ตรวจวัดไปวางไว้ในกล่อง Studio box ทำการบันทึกภาพด้วยโทรศัพท์มือถือก่อนการตรวจวัด จากนั้นทำการปิเปตสารละลายแบลงค์ที่เตรียมจากสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 6 ปริมาตร 5 ไมโครลิตร ลงบนอุปกรณ์ตรวจวัดพร้อมจับเวลา 1 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนด ให้เปลี่ยนไปปิเปตสารละลายมาตรฐานครีโอะตินินความเข้มข้น 10, 50, 100, 300, 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ทำการทดลอง 2 ซ้ำ โดยบันทึกวิดีโอตลอดการตรวจวัดและทำการบันทึกภาพหน้าจอ เพื่อนำไปหาค่า Intensity RGB ด้วยโปรแกรม ImageJ จากนั้นทำการทดลองซ้ำ โดยเปลี่ยนไปใช้กับอุปกรณ์ตรวจวัดตรึงอนุภาคทองนาโนโดยใช้โพสโวลีนัลแอลกอฮอล์ 0.25, 0.5, 1 % w/v ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.3.3.2 ความสม่ำเสมอของการตรึงอนุภาคทองระดับนาโนบนกระดาษ

นำอุปกรณ์ตรวจวัดที่ตรึงด้วยอนุภาคทองนาโน โดยใช้โพลีไวนิลแอลกอฮอล์ 0.25 % w/v เป็นตัวรักษาเสถียรภาพ นำมาจัดเรียงและทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นทำการถ่ายภาพด้วยโทรศัพท์มือถือและทำการบันทึกภาพหน้าจอ เพื่อนำไปหาค่า Intensity RGB ด้วยโปรแกรม ImageJ

### 3.3.3.3 วิธีการทำให้อุปกรณ์ตรวจวัดแห้ง

หลังจากแช่กระดาษในสารละลายผสมครบ 24 ชั่วโมง จะทำให้กระดาษแห้งโดยแบ่งออกเป็น 2 วิธี คือ ทำให้แห้งที่อุณหภูมิห้องโดยนำกระดาษมาจัดเรียงแล้วตั้งทิ้งไว้แห้งเป็นเวลา 30 นาที และทำให้แห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อน อุณหภูมิ 75 °C เป็นเวลา 5 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนด นำอุปกรณ์ตรวจวัดที่ได้ไปวางไว้ในกล่อง Studio box พร้อมทำการถ่ายภาพสื่อุปกรณ์ตรวจวัด

### 3.3.3.4 ความเข้มข้นของอนุภาคทองระดับนาโนที่เหมาะสม

เตรียมสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนที่สังเคราะห์ได้ความเข้มข้น 13.5 นาโนโมลาร์ และที่ผ่านการ Centrifuge ความเข้มข้น 135.5 นาโนโมลาร์ โดยใช้โพลีไวนิลแอลกอฮอล์ 0.25 % w/v เป็นตัวรักษาเสถียรภาพ ทำการแช่กระดาษกรองในสารละลายเป็นเวลา 24 ชั่วโมง อุณหภูมิ 4 °C เมื่อครบเวลาตามที่กำหนด นำอุปกรณ์ตรวจวัดที่แช่ในสารละลายอนุภาคทองนาโนทั้ง 2 ความเข้มข้น นำมาจัดเรียงและทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวางไว้ในกล่อง Studio box พร้อมทำการถ่ายภาพสื่อุปกรณ์ตรวจวัด

### 3.3.3.5 เวลาที่เหมาะสมใช้ในการตรวจวัด

นำอุปกรณ์ตรวจวัดที่ตรึงด้วยอนุภาคทองนาโน โดยใช้โพลีไวนิลแอลกอฮอล์ 0.25 % w/v เป็นตัวรักษาเสถียรภาพ นำมาจัดเรียงและทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนด นำอุปกรณ์ตรวจวัดไปวางไว้ในกล่อง Studio box ทำการบันทึกภาพด้วยโทรศัพท์มือถือก่อนการตรวจวัด จากนั้นทำการปิเปตสารละลายแบลงค์ที่เตรียมจากสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 6 ปริมาตร 5 ไมโครลิตร ลงบนอุปกรณ์ตรวจวัดพร้อมจับเวลา 1 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนด ให้เปลี่ยนไปปิเปตสารละลายมาตรฐานครีอะตินีนความเข้มข้น 10, 50, 100, 300, 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ทำการทดลอง 2 ซ้ำ โดยบันทึกวิดีโอตลอดการตรวจวัดและทำการบันทึกภาพหน้าจอหน้าที่ 1, 10 และ 30 เพื่อนำไปหาค่า Intensity RGB ด้วยโปรแกรม ImageJ

### 3.3.3.6 ขนาดรูพรุนของกระดาษกรองที่เหมาะสม

นำอุปกรณ์ตรวจวัดที่เตรียมได้จากกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ขนาดรูพรุน 11 ไมโครเมตร ที่ตรึงด้วยอนุภาคทองนาโน โดยใช้โพลีไวนิลแอลกอฮอล์ 0.25 % w/v เป็นตัวรักษาเสถียรภาพ นำมาจัดเรียงและทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนด นำอุปกรณ์ตรวจวัดไปวางไว้ในกล่อง Studio box ทำการบันทึกภาพด้วยโทรศัพท์มือถือก่อนการตรวจวัด จากนั้นทำการปิเปตสารละลายแบลงค์ ที่เตรียมจากสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 6 ปริมาตร 5 ไมโครลิตร ลงบนอุปกรณ์ตรวจวัดพร้อมจับเวลา 1 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ให้เปลี่ยนไปปิเปตสารละลายมาตรฐานครีอะตินิน ความเข้มข้น 10, 50, 100, 300, 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ทำการทดลอง 2 ซ้ำ โดยบันทึกวิดีโอตลอดการตรวจวัดและทำการบันทึกภาพหน้าจอ เพื่อนำไปหาค่า Intensity RGB ด้วยโปรแกรม ImageJ ทำการทดลองซ้ำโดยเปลี่ยนไปใช้กับอุปกรณ์ตรวจวัดที่เตรียมจากกระดาษกรองเบอร์ 2 ขนาดรูพรุน 8 ไมโครเมตร และเบอร์ 3 ขนาดรูพรุน 6 ไมโครเมตร ตามลำดับ

### 3.3.4 การตรวจวัดครีอะตินินด้วยอนุภาคของระดับนาโนในตัวอย่างปัสสาวะ

นำอุปกรณ์ตรวจวัดที่เตรียมจากกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 2 ที่ตรึงด้วยอนุภาคของระดับนาโนความเข้มข้น 135.5 นาโนโมลาร์ โดยใช้โพลีไวนิลแอลกอฮอล์ 0.25 % w/v เป็นตัวรักษาเสถียรภาพ นำมาจัดเรียงและตั้งทิ้งไว้แห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนด นำอุปกรณ์ตรวจวัดไปวางไว้ในกล่อง Studio box ทำการบันทึกภาพด้วยโทรศัพท์มือถือก่อนการตรวจวัด จากนั้นปิเปต Spike sample ที่เตรียมได้จาก 3.2.5 ปริมาตร 5 ไมโครลิตร ลงบนอุปกรณ์ตรวจวัด โดยทำการบันทึกวิดีโอตลอดการตรวจวัดและทำการบันทึกภาพหน้าจอทันทีที่ 30 เพื่อนำไปหาค่า Intensity RGB ด้วยโปรแกรม ImageJ

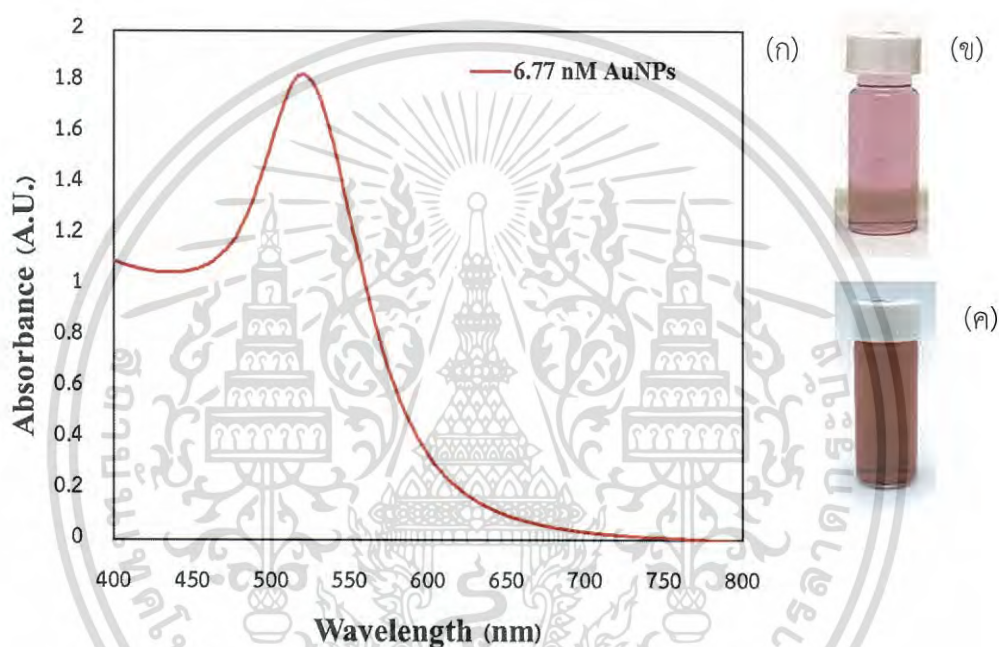


## บทที่ 4

## ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

## 4.1 ผลการศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโน

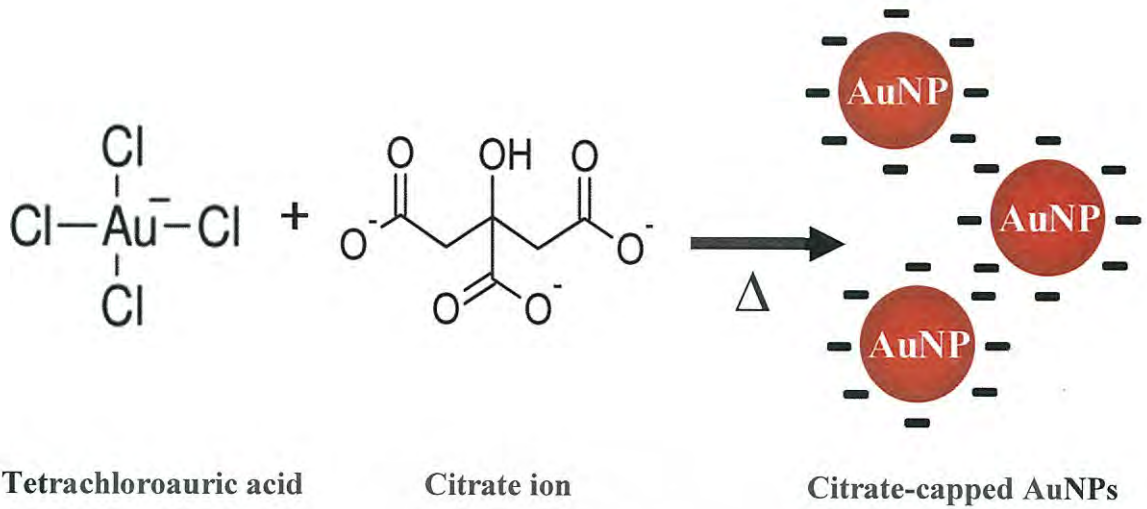
ได้ทำการการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนโดยวิธีของเทอคีวิช (Turkevich method) โดยอาศัยปฏิกิริยารีดักชันของ ไฮโดรเจนเตตระคลอโรอูริก ( $\text{HAuCl}_4$ ) ด้วยโซเดียมซิเตรตไตรไฮเดรต ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ ) ทำการตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 400-800 นาโนเมตร ได้ผลการทดลองแสดงดังรูป 4.1



รูปที่ 4.1 (ก) แสดง Surface plasmon band ของอนุภาคทองระดับนาโนที่สังเคราะห์ขึ้น  
 (ข) แสดงรูปถ่ายสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนเจือจาง 2 เท่า  
 (ค) แสดงรูปถ่ายสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนที่สังเคราะห์ได้

จากผลการทดลองในรูปที่ 4.1 พบว่าสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนที่สังเคราะห์ขึ้นมีสีแดงทับทิม โดยกลไกการเกิดสีนั้นเกิดจากการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโน ซึ่งเป็นผลมาจากขนาดและรูปร่างของอนุภาคระดับนาโน โดยสารละลายที่สังเคราะห์ขึ้นมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดเท่ากับ 1.829 ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร มีกลไกการเกิดของอนุภาคระดับนาโนแสดงดังรูปที่ 4.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 แสดงกลไกในการเกิดอนุภาคทองระดับนาโน [40]

จากค่าดูดกลืนแสงและความยาวคลื่นที่ปรากฏสามารถคำนวณความเข้มข้นของสารละลายอนุภาคทองคำนาโนได้จากสมการ

$$A_{\text{GNP}} = \epsilon_{\text{GNP}} C_{\text{GNP}} f \quad [39]$$

- เมื่อ
- $A_{\text{GNP}}$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสาร (Absorbance)
  - $\epsilon_{\text{GNP}}$  คือ ค่าจำเพาะของสารที่ดูดกลืนแสงและวัดที่ความยาวคลื่นค่าหนึ่งเรียกว่า Molar absorptivity ( $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ )
  - $C_{\text{GNP}}$  คือ ความเข้มข้นของสารเป็นโมลาร์ (M)
  - $f$  คือ ระยะทางที่แสงผ่าน (cm)

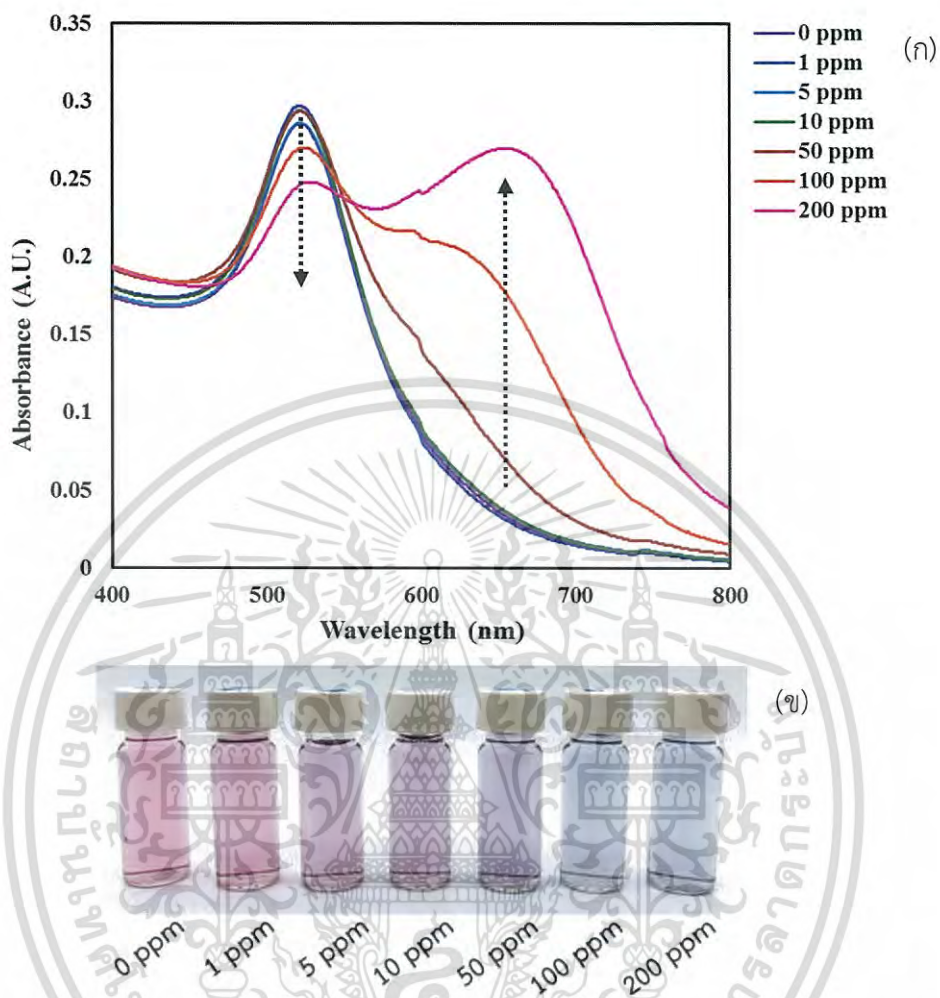
แทนค่าในสมการ  $1.829 = (2.7 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{cm}^{-1}) (1 \text{ cm}) (C_{\text{ext}})$

$$C_{\text{ext}} = \frac{1.829}{(2.7 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{cm}^{-1}) (1 \text{ cm})}$$

$$C_{\text{ext}} = 6.77 \times 10^{-9} \text{ M}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.2 ผลการศึกษาการตรวจวัดครีอะตินินด้วยอนุภาคทองระดับนาโนโดยใช้เทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี

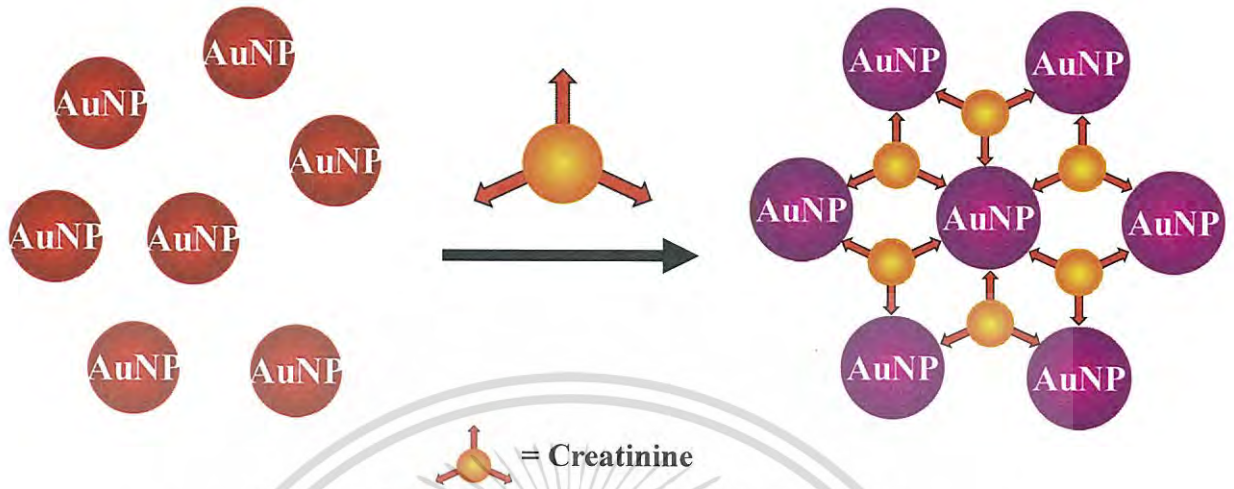


รูปที่ 4.3 (ก) แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนที่สังเคราะห์ขึ้นเมื่อทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานครีอะตินินที่ความเข้มข้น 0 – 200 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข) แสดงสีของสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนหลังทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานครีอะตินินที่ความเข้มข้นต่างๆ

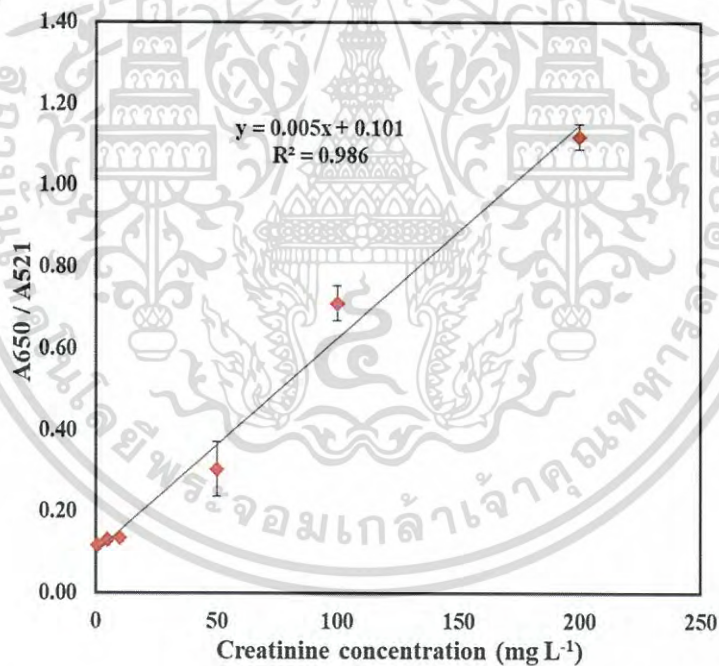
ผลการทดลองในรูปที่ 4.3 (ก) และ (ข) เกิดจากอันตรกิริยาระหว่างอนุภาคทองระดับนาโนกับครีอะตินิน โดยไนโตรเจนในโครงสร้าง Hybrid aromatic ของครีอะตินิน สามารถยึดเกาะกับอนุภาคทองนาโนด้วยแรง Coordination interaction จึงทำให้ครีอะตินินสามารถแทนที่ซิเทรตไอออนที่อยู่บนผิวของอนุภาคทองนาโนได้ โดยครีอะตินินจะเหนี่ยวนำให้อนุภาคทองระดับนาโนเกิดการรวมตัวกันส่งผลให้ค่าดูดกลืนแสงของสารละลาย ที่ความยาวคลื่น 521 นาโนเมตร ลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และเพิ่มขึ้นที่ 650 นาโนเมตร ตามความเข้มข้นของครีเอตินิน และสีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีแดงไปเป็นสีม่วงตามกลไกการเกิดปฏิกิริยาแสดงดังรูปที่ 4.4



รูปที่ 4.4 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาระหว่างอนุภาคทองคำนาโนกับครีเอตินิน [30]



รูปที่ 4.5 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น

650 ต่อ 521 นาโนเมตร ( $A_{650/521}$ ) กับความเข้มข้นของครีเอตินิน 0-200 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากผลการทดลองในรูปที่ 4.5 พบว่าอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 ต่อค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 521 นาโนเมตร มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของครีเอตินินเพิ่มขึ้น กราฟมาตรฐานครีเอตินินมีช่วงความเป็นเส้นตรงที่ดี โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ ( $r^2$ ) เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

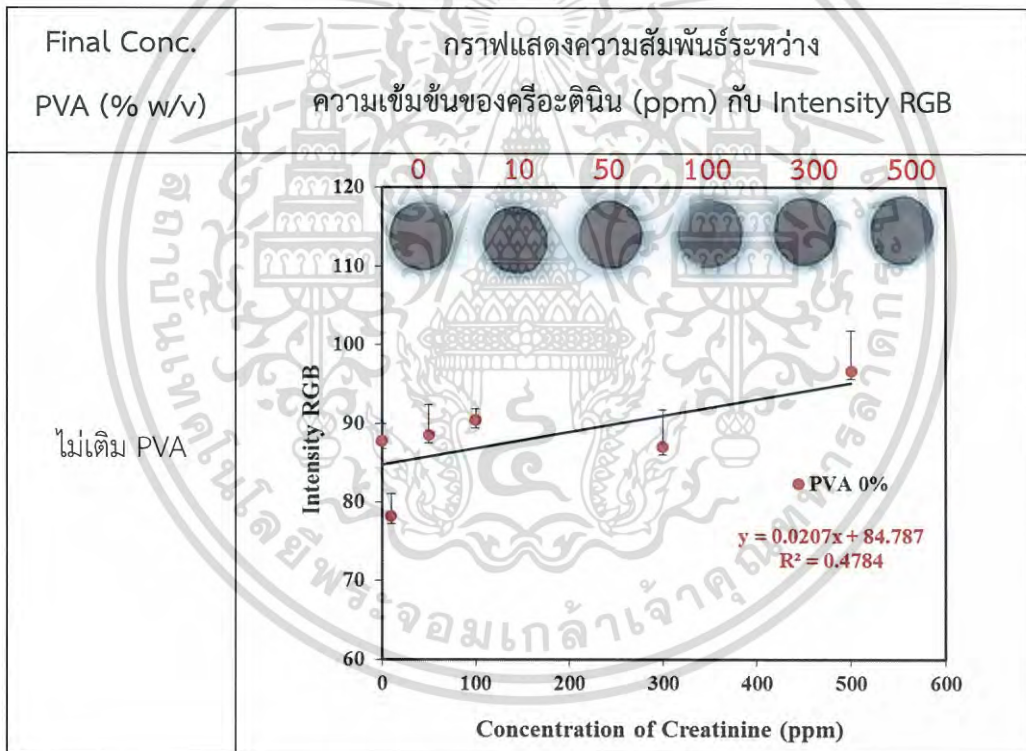
เท่ากับ 0.986 ซึ่งถือว่าอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ ดังนั้นจึงสามารถตรวจวัดครีอะตินินโดยใช้อนุภาคทองระดับนาโนที่สังเคราะห์ขึ้นได้

#### 4.3 ผลการศึกษาการเตรียมอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ

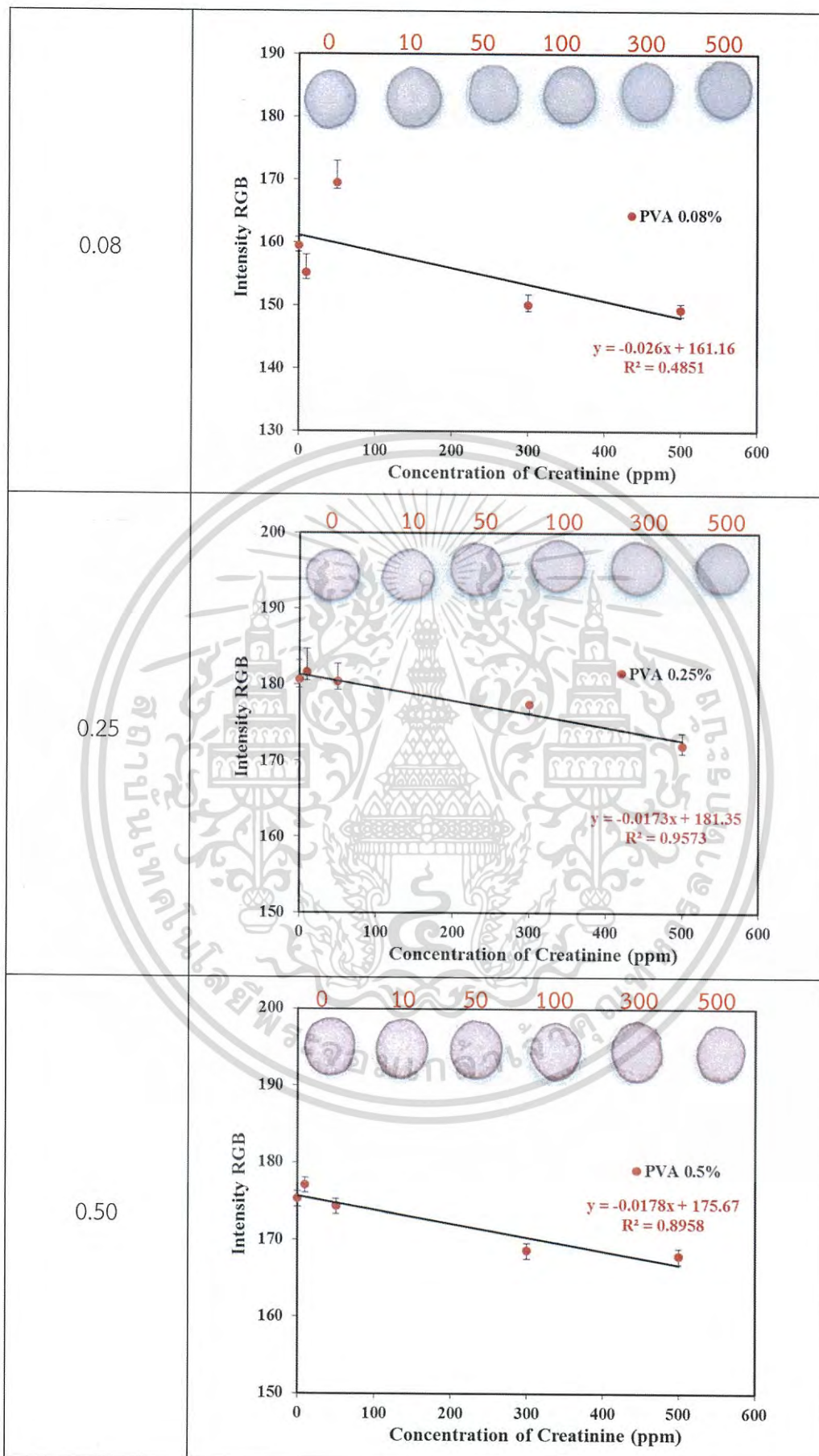
4.3.1 ผลการศึกษาความเข้มข้นของโพลีไวนิลแอลกอฮอล์ที่เหมาะสมในการรักษาเสถียรภาพอนุภาคทองระดับนาโนบนกระดาษกรอง

ทำการศึกษาความเข้มข้นของโพลีไวนิลแอลกอฮอล์ที่เหมาะสมในการรักษาเสถียรภาพอนุภาคทองระดับนาโน โดยเลือกความเข้มข้นของโพลีไวนิลแอลกอฮอล์ที่ศึกษา คือ ไม่เติม PVA และเติมที่ความเข้มข้น 0.08, 0.25, 0.5 และ 1 % w/v ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.1

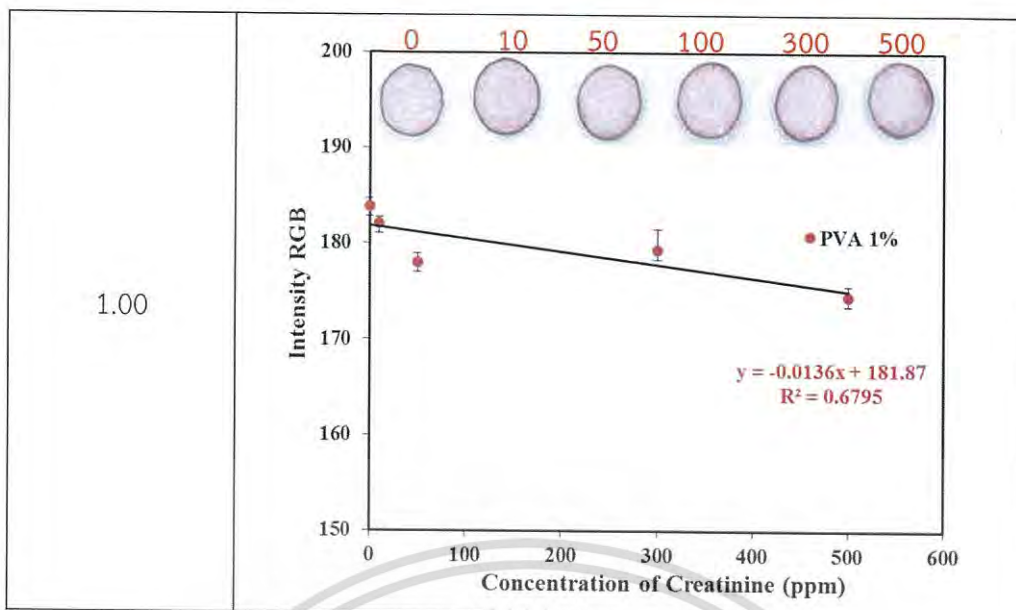
ตารางที่ 4.1 ตารางแสดงการเปรียบเทียบสีอุปกรณ์ตรวจวัดหลังหยดสารละลายมาตรฐานครีอะตินิน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



จากตารางผลการทดลองที่ 4.1 แสดงการเปรียบเทียบสีของอุปกรณ์ตรวจวัดที่เปลี่ยนแปลงไปหลังหยดสารละลายมาตรฐานครีเอตินิน โดยใช้โพลีไวนิลแอลกอฮอล์ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นตัวรักษาเสถียรภาพอนุภาคของระดับนาโนบนกระดาษกรองสามารถสรุปผลการทดลองได้ดังต่อไปนี้

เมื่อไม่เติม PVA จากการทดลองพบว่าสารละลายอนุภาคของนาโนที่ใช้มีความเข้มข้นสูงทำให้อนุภาคของนาโนเกิดการรวมตัวกัน สีอุปกรณ์ตรวจวัดจึงเปลี่ยนสีจากสีแดงเป็นสีม่วงอย่างรวดเร็วในทุกๆ ความเข้มข้นของครีเอตินิน เมื่อนำอุปกรณ์ตรวจวัดมาหาค่า Intensity RGB จึงไม่มีแนวโน้มความเป็นเส้นตรง อาจเป็นไปได้ว่าเกิดการรวมตัวกันเอง (Self-aggregation) ของอนุภาคของนาโน ดังนั้นการเติม PVA จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง

เมื่อใช้ 0.08 % w/v PVA จากการทดลองพบว่าสีบนอุปกรณ์ตรวจวัดเปลี่ยนเป็นสีม่วงในทุกๆ ความเข้มข้นของครีเอตินิน เนื่องจาก PVA มีความเข้มข้นน้อย จึงไม่สามารถรักษาเสถียรภาพอนุภาคของระดับนาโนได้ จึงส่งผลให้เกิดการรวมตัวกันเมื่อนำอุปกรณ์ตรวจวัดมาหาค่า Intensity RGB จึงไม่มีแนวโน้มความเป็นเส้นตรง

เมื่อใช้ 0.25 % w/v PVA จากการทดลองพบว่าสีบนอุปกรณ์ตรวจวัดเกิดการเปลี่ยนสีจากสีแดงไปเป็นสีม่วงตามความเข้มข้นของครีเอตินิน เนื่องจากที่ความเข้มข้นนี้ PVA สามารถรักษาเสถียรภาพของอนุภาคของระดับนาโนได้ เมื่อนำอุปกรณ์ตรวจวัดมาหาค่า Intensity RGB จึงมีแนวโน้มความเป็นเส้นตรงที่ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อใช้ 0.50 % w/v PVA จากการทดลองพบว่าผลที่ได้คล้ายกับ 0.25 % w/v PVA โดยจะเห็นสีบนอุปกรณ์ตรวจวัดเกิดการเปลี่ยนสีจากสีแดงไปเป็นสีม่วงตามความเข้มข้นของครีอะดินิน แต่จะเห็นการเปลี่ยนแปลงสีที่ช้ากว่า 0.25 % w/v PVA เมื่อสังเกตด้วยตาเปล่า เนื่องจากที่ความเข้มข้นนี้ PVA สามารถรักษาเสถียรภาพของอนุภาคทองระดับนาโนได้ แต่เมื่อความเข้มข้นของ PVA เพิ่มขึ้น อาจทำให้การรวมตัวของอนุภาคทองระดับนาโนโดยครีอะดินินเกิดได้ช้าขึ้น อย่างไรก็ตาม เมื่อนำอุปกรณ์ตรวจวัดมาหาค่า Intensity RGB ยังคงมีแนวโน้มความเป็นเส้นตรงที่ดี

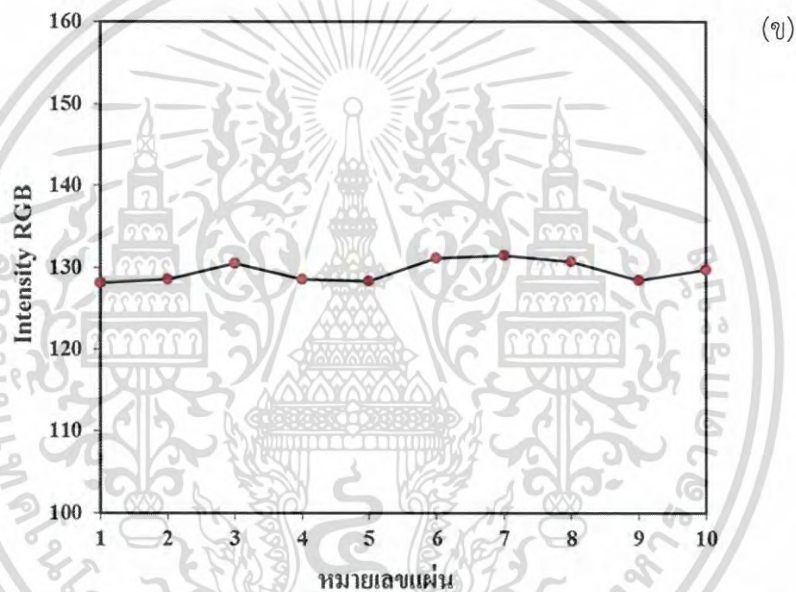
เมื่อใช้ 1.00 % w/v PVA จากการทดลองพบว่าสีบนอุปกรณ์ตรวจวัดยังคงมีสีแดงหลังหยดสารละลายมาตรฐานครีอะดินินในทุกๆ ความเข้มข้นไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นสีม่วง เนื่องจาก PVA เป็นพอลิเมอร์ซึ่งมีโครงสร้างขนาดใหญ่ ดังนั้นเมื่อใช้ PVA ที่ความเข้มข้นสูง จึงเข้าไปขัดขวางครีอะดินินไม่ให้เกิดอันตรกิริยากับอนุภาคทองระดับนาโนได้ (Steric effect) ทำให้สีบนอุปกรณ์ตรวจวัดไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงสีจากสีแดงเป็นม่วง เมื่อนำอุปกรณ์ตรวจวัดมาหาค่า Intensity RGB จึงไม่มีแนวโน้มความเป็นเส้นตรง

ดังนั้น จึงเลือกใช้ 0.25 % w/v PVA ที่ความเข้มข้นนี้ เป็นตัวรักษาเสถียรภาพของอนุภาคทองระดับนาโนบนกระดาษ



#### 4.3.2 ผลการศึกษาความสม่ำเสมอของการตรึงอนุภาคทองคำนาโนบนกระดาษแต่ละแผ่น

ทำการศึกษาความสม่ำเสมอของการตรึงอนุภาคทองคำนาโนบนกระดาษ หลังการแช่กระดาษกรอง ในสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนที่ความเข้มข้น 135.5 นาโนโมลาร์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4 °C ทำการหาค่า Intensity RGB ของกระดาษที่เตรียมได้ในแต่ละแผ่น ผลการทดลอง แสดงดังรูปที่ 4.6



รูปที่ 4.6 (ก) แสดงรูปถ่ายอุปกรณ์ตรวจวัดหลังตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง



(ข) กราฟแสดงค่า Intensity RGB ที่หาได้จากอุปกรณ์ตรวจวัดในข้อ (ก)

จากผลการทดลองในรูปที่ 4.6 แสดงให้เห็นว่าค่า Intensity RGB ของทุกๆแผ่นมีค่าใกล้เคียงกัน จึงกล่าวได้ว่าอุปกรณ์ตรวจวัดที่เตรียมขึ้นมีความสม่ำเสมอของการตรึงอนุภาคทองคำนาโนบนกระดาษ

### 4.3.3 ผลการเปรียบเทียบวิธีการทำให้อนุภาคตรวจวัดแห้ง

ทำการศึกษาวิธีการทำให้อนุภาคตรวจวัดแห้งก่อนนำมาหยดสารละลายมาตรฐานครีอะตินิน ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 เปรียบเทียบสีบนอนุภาคตรวจวัด

แห้งที่อุณหภูมิห้อง	แห้งโดยการอบ (อุณหภูมิ 75 °C)
	

จากตารางผลการทดลองที่ 4.2 แสดงให้เห็นอนุภาคตรวจวัดที่ทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง (ใช้เวลา 30 นาที จึงแห้งสนิท) ก่อนการนำมาหยดสารละลายมาตรฐานครีอะตินิน สีบนอนุภาคตรวจวัดมีความเรียบเนียนสม่ำเสมอมากกว่าการแห้งโดยการนำไปอบที่อุณหภูมิ 75 °C (ใช้เวลา 5 นาที จึงแห้งสนิท) ดังนั้นจึงเลือกใช้วิธีการทำให้อนุภาคตรวจวัดแห้งที่อุณหภูมิห้อง

### 4.4 อิทธิพลของตัวแปรที่ส่งผลต่อการตรวจวัด

#### 4.4.1 ผลของความเข้มข้นของอนุภาคของระดับนาโนที่ใช้ในการเตรียมอนุภาคตรวจวัด

ทำการศึกษาความเข้มข้นของอนุภาคของระดับนาโนที่ใช้ในการเตรียมอนุภาคตรวจวัดโดยใช้สารละลายอนุภาคของระดับนาโนที่สังเคราะห์ได้ความเข้มข้น 13.5 นาโนโมลาร์ และอนุภาคของนาโนที่ผ่านการ Centrifuge ความเข้มข้น 135.5 นาโนโมลาร์ ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 เปรียบเทียบสีบนอนุภาคตรวจวัดเมื่อใช้สารละลายอนุภาคของระดับนาโนที่สังเคราะห์ได้และอนุภาคของนาโนและอนุภาคของนาโนที่ผ่านการ Centrifuge

อนุภาคของระดับนาโนความเข้มข้น 13.5 nM	อนุภาคของระดับนาโนความเข้มข้น 135.5 nM
	

จากตารางผลการทดลองที่ 4.3 แสดงให้เห็นว่าเมื่อแช่อนุภาคตรวจวัดในสารละลายอนุภาคของระดับนาโนที่สังเคราะห์ได้ (ความเข้มข้น 13.5 นาโนโมลาร์) จะได้อนุภาคตรวจวัดที่มีสีชมพูอ่อนกว่าอนุภาคตรวจวัด ที่แช่ในสารละลายอนุภาคของระดับนาโนที่ผ่านการ Centrifuge

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะมีความเข้มข้นสูงขึ้นเป็น 135.5 นาโนโมลาร์ ส่งผลให้อุปกรณ์ตรวจวัดมีสีแดงเข้ม ดังนั้นจึงเลือกใช้อนุภาคของระดับนาโนที่ผ่านการ Centrifuge ในการเตรียมอุปกรณ์ตรวจวัดเพื่อให้เห็นการเปลี่ยนแปลงสีบนอุปกรณ์ตรวจวัดที่ชัดเจน

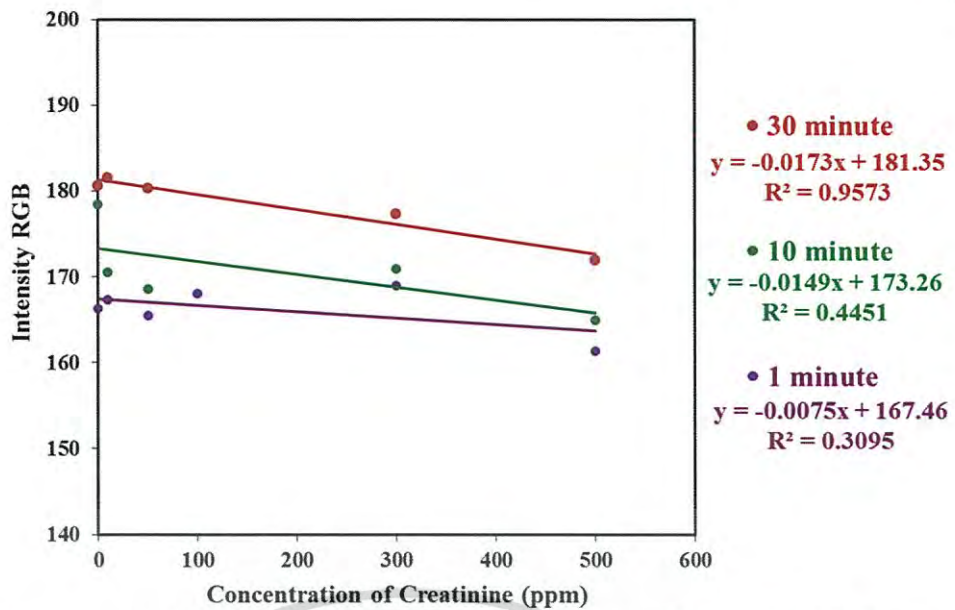
#### 4.4.2 ผลจากอิทธิพลของเวลาที่มีผลในการตรวจวัด

ทำการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการตรวจวัดครีอะตินินบนกระดาษ โดยศึกษาที่เวลา 1, 10 และ 30 นาที เมื่อใช้โพลิไวนิลแอลกอฮอล์ 0.25 % w/v เป็นตัวรักษาเสถียรภาพ ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 เปรียบเทียบสีบนอุปกรณ์ตรวจวัดที่ทำการตรวจวัดนาที่ที่ 1, 10 และ 30 นาที

ตรวจวัดนาที่ที่	หลังหยดสารละลายมาตรฐานครีอะตินิน (ppm)					
	0	10	50	100	300	500
1						
10						
30						

จากตารางผลการทดลองที่ 4.4 จะเห็นได้ว่าที่นาที่ที่ 1 อุปกรณ์ตรวจวัดยังคงมีสีแดงเนื่องจากอุปกรณ์ตรวจวัดยังแห้งไม่สนิท เมื่อเวลาที่ 10 นาทีเป็นต้นไป จึงเริ่มเห็นการเปลี่ยนสีจากแดงเป็นม่วง และเมื่อนำไปหาค่า Intensity RGB ได้ผลแสดงดังรูปที่ 4.7



รูปที่ 4.7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Intensity RGB กับ ความเข้มข้นของครีเอตินินในช่วง 0 - 600 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการตรวจวัดนาที่ที่ 1 (—), 10 (—) และ 30 (—)

จากผลการทดลองรูปที่ 4.7 จะเห็นได้ว่า เมื่อทำการตรวจวัดนาที่ที่ 30 จะให้ค่าความเป็นเส้นตรงที่ดี โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ ( $r^2$ ) เท่ากับ 0.9573 ซึ่งเป็นผลมาจากการทิ้งให้อุปกรณ์ตรวจวัดแห้งสนิทผลการวิเคราะห์จึงมีแนวโน้มที่ดี ดังนั้นจึงเลือกทำการตรวจวัดที่นาที่ 30

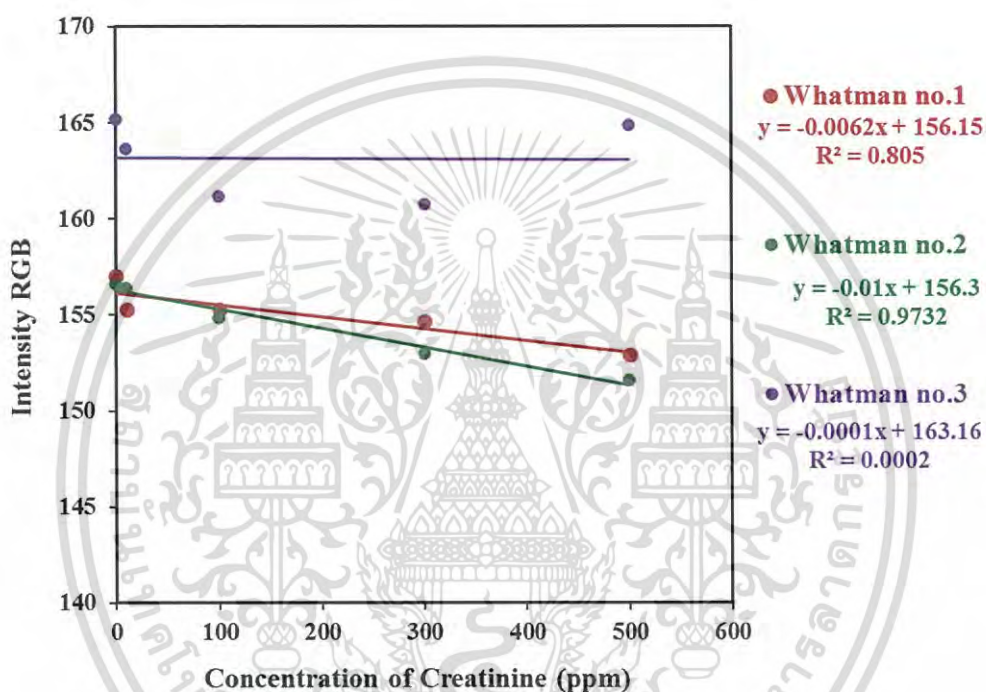
#### 4.4.3 ผลจากขนาดรูพรุนของกระดาษกรองที่เหมาะสมในการใช้เป็นอุปกรณ์ตรวจวัด

ทำการศึกษาชนิดของกระดาษกรองที่มีขนาดรูพรุนที่แตกต่างกัน ซึ่งส่งผลต่อการตรวจวัดโดยทำการศึกษากระดาษกรองยี่ห้อ Whatman เบอร์ 1, 2 และ 3 โดยใช้โพลีไวนิลแอลกอฮอล์ 0.25 % w/v เป็นตัวรักษาเสถียรภาพ ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 เปรียบเทียบสีบนอุปกรณ์ตรวจวัดของกระดาษกรองเบอร์ 1, 2 และ 3

เบอร์กระดาษกรอง	ขนาดรูพรุน	หลังหยดสารละลายมาตรฐานครีเอตินิน (ppm)					
		0	10	50	100	300	500
No. 1	11 $\mu$ m						
No. 2	8 $\mu$ m						
No. 3	6 $\mu$ m						

จากตารางผลการทดลองที่ 4.5 เมื่อหยดสารละลายมาตรฐานครีเอตินินที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงบนกระดาษกรองเบอร์ 1 และ 2 จะเห็นได้ว่า สีของอุปกรณ์ตรวจวัดมีความสม่ำเสมอเนื่องจากกระดาษกรองมีลักษณะที่บางและขนาดรูพรุนใหญ่ ผลส่งผลให้สารเกิดการแพร่ของสารละลายได้ทั่วแผ่น ในขณะที่กระดาษกรองเบอร์ 3 มีลักษณะกระดาษที่หนาและขนาดรูพรุนเล็กกว่าเบอร์ 1 และ 2 ส่งผลให้สารละลายเกิดการแพร่ได้น้อย และจะเห็นอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษมีสีซีดบริเวณตรงกลาง เมื่อนำอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษที่เตรียมจากกระดาษกรองเบอร์ต่างๆ ไปหาค่า Intensity RGB ได้ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.8



รูปที่ 4.8 กราฟแสดงค่าความสัมพันธ์ระหว่าง Intensity RGB กับ ความเข้มข้นของครีเอตินิน

(มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่เตรียมจากกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 (—), 2 (—) และ 3 (—)

ผลการทดลองรูปที่ 4.8 แสดงการเปรียบเทียบค่า Intensity RGB เมื่อใช้ PVA 0.25 % w/v เป็นตัวรักษาเสถียรภาพอนุภาคทองระดับนาโน พบว่าเมื่อใช้กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 2 (ขนาดรูพรุน 8 ไมโครเมตร) กราฟที่ได้มีแนวโน้มเป็นเส้นตรงที่ดีที่สุด อาจเป็นเพราะมีขนาดรูพรุนที่เหมาะสม ซึ่งสามารถตรึงอนุภาคทองนาโนไว้ได้และเมื่อนำมาหยดสารละลายมาตรฐานครีเอตินิน จะเห็นการเปลี่ยนสีบนอุปกรณ์ตรวจวัดจากสีแดงเป็นม่วงตามความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานครีเอตินินที่เพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงเลือกใช้กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 2 ในการเตรียมอุปกรณ์ตรวจวัด

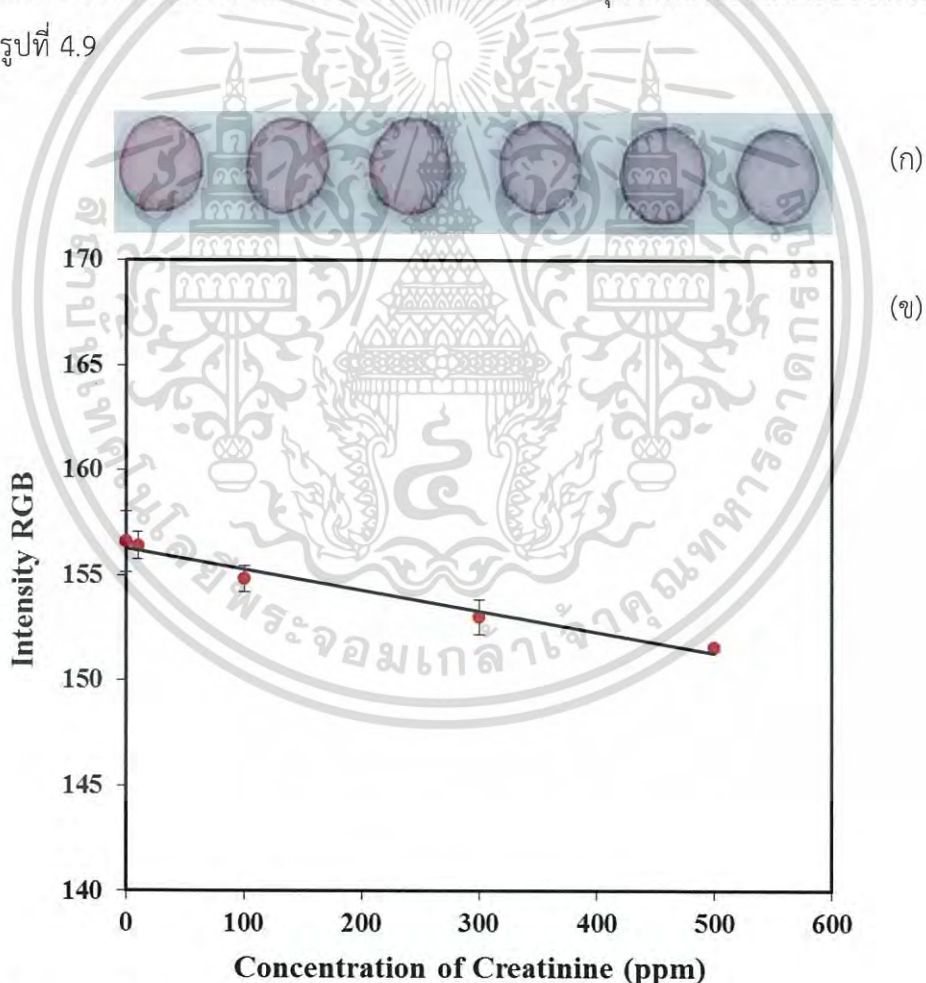
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 แสดงสรุปสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดหาปริมาณครีเอตินินบนกระดาษ

พารามิเตอร์	สภาวะที่เหมาะสม
ความเข้มข้น PVA	0.25 % w/v
วิธีการทำให้อุปกรณ์ตรวจวัดแห้ง	แห้งที่อุณหภูมิห้อง
ความเข้มข้นของ AuNPs	135.5 นาโนโมลาร์
เวลาในการตรวจวัด	30 นาที
ชนิดของกระดาษ	Whatman no. 2

#### 4.5 ผลการศึกษาความเป็นเส้นตรงและความเที่ยง

ทำการศึกษาความเป็นเส้นตรงและความเที่ยงของการตรวจวัดครีเอตินินบนกระดาษ โดยใช้โพลีไวนิลแอลกอฮอล์ 0.25 % w/v เป็นตัวรักษาเสถียรภาพอนุภาคทองระดับนาโน ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.9



รูปที่ 4.9 ก) แสดงสีอุปกรณ์ตรวจวัดหลังสารละลายมาตรฐานครีเอตินิน

ข) กราฟมาตรฐานแสดงค่าความสัมพันธ์ระหว่าง Intensity RGB กับความเข้มข้นครีเอตินิน 0 – 500 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองในรูปที่ 4.9 แสดงให้เห็นว่าสปีกของครีเอตินินตรวจวัดเปลี่ยนแปลงจากสีแดงเป็นสีม่วงตามความเข้มข้นของครีเอตินินที่เพิ่มขึ้น และกราฟมาตรฐานครีเอตินินมีช่วงความเป็นเส้นตรงที่ดี ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสิ้นใจ ( $r^2$ ) เท่ากับ 0.9732 ซึ่งอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ และมีส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) อยู่ในช่วง 0.4 - 1.2 ซึ่งถือว่ามีความเที่ยงอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

#### 4.6 ผลการตรวจวัดครีเอตินินโดยใช้อนุภาคทองระดับนาโนในตัวอย่างปัสสาวะ

ทำการศึกษาการตรวจวัดครีเอตินินในตัวอย่างปัสสาวะ โดยเตรียมตัวอย่างจากปัสสาวะที่ไม่เจือจางและเจือจาง 100 เท่า ด้วยน้ำปราศจากไอออน โดยทำการวิเคราะห์ทั้งหมด 3 ตัวอย่าง ได้ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 แสดงผลร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับในตัวอย่างปัสสาวะ

Dilution factor	Sample	Creatinine concentration (ppm)			Recovery (%)
		added	original	found	
Pure sample	A	286	90	331	84
	B	286	77	303	79
	C	286	183	429	85
Dilute 100 fold	A	286	75	367	102
	B	286	65	370	107
	C	286	102	361	90

จากตารางผลการทดลองที่ 4.7 พบว่า ตัวอย่างปัสสาวะที่ทำการเจือจางและไม่เจือจางนั้นสามารถหาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับได้มีค่าแตกต่างกัน โดยตัวอย่างปัสสาวะที่ทำการเจือจางจะมีค่าร้อยละของการคืนกลับได้อยู่ในช่วง 90 - 102 ซึ่งมีค่าสูงกว่าตัวอย่างปัสสาวะที่ไม่ได้เจือจางซึ่งมีค่าร้อยละของการคืนกลับได้อยู่ในช่วง 79 - 85 สาเหตุที่ตัวอย่างปัสสาวะที่ไม่ได้เจือจางให้ผลการวิเคราะห์ไม่ดี อาจเป็นผลมาจากตัวรบกวนอื่นๆ ในตัวอย่างปัสสาวะที่รบกวนการวิเคราะห์

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการวิจัย

ในงานวิจัยนี้ ได้ศึกษาการตรวจวัดครีอะตินินในปัสสาวะ โดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยาการรวมตัวกันของอนุภาคทองระดับนาโน ซึ่งเริ่มจากการศึกษาวิธีการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนด้วยวิธีเทอร์คีวิช (Terkevich method) โดยสังเคราะห์จากไฮโดรเจนเตตระคลอไรด์และใช้โซเดียมซิเตรทเป็นตัวรีดิวซ์พร้อมช่วยในการรักษาเสถียรภาพ จากนั้นนำสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนที่สังเคราะห์ได้มาประยุกต์ใช้เป็นเซ็นเซอร์ทางเคมี โดยทำการตรึงอนุภาคทองบนกระดาษและใช้โพลีไวนิลแอลกอฮอล์เป็นตัวรักษาเสถียรภาพของอนุภาคทองระดับนาโนเพื่อใช้เป็นอุปกรณ์ตรวจวัด หลักการตรวจวัดจะทำการถ่ายรูปสีของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นบนอุปกรณ์ตรวจวัดโดยใช้กล้องโทรศัพท์มือถือ การทดลองสามารถสรุปผลได้ดังนี้

จากการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโน จะได้สารละลายสีแดงไวน์ เมื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 400-800 นาโนเมตร พบว่ามีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 521 นาโนเมตรและค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของการตรวจวัดครีอะตินินอยู่ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร

เมื่อทำการตรวจวัดครีอะตินินด้วยอนุภาคทองนาโนค่าการดูดกลืนที่ความยาวคลื่น 521 นาโนเมตร จะลดลง และเพิ่มขึ้นที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ตามความเข้มข้นของครีอะตินิน เมื่อทำการสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนค่าดูดกลืนแสง ( $A_{650/521}$ ) กับความเข้มข้นของครีอะตินิน โดยมีช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วง 0 - 200 มิลลิกรัมต่อลิตร จะมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเท่ากับ 0.986 ซึ่งถือว่าอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้

การเตรียมอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษโดยการตรึงอนุภาคทองระดับนาโน จะใช้โพลีไวนิลแอลกอฮอล์ที่ความเข้มข้น 0.25 % w/v เป็นตัวรักษาเสถียรภาพของอนุภาคทองระดับนาโนบนกระดาษ โดยอุปกรณ์ตรวจวัดที่เตรียมได้นั้นมีความสม่ำเสมอของการตรึงอนุภาคทองนาโนบนกระดาษ ซึ่งสามารถสังเกตจากสีของอุปกรณ์ตรวจวัดและค่า Intensity RGB

สภาวะที่มีอิทธิพลต่อการตรวจวัดคือ วิธีการทำให้อุปกรณ์ตรวจวัดแห้งที่อุณหภูมิห้อง จะได้สีที่เรียบเนียนสม่ำเสมอ ความเข้มข้นของอนุภาคทองระดับนาโนที่ใช้ 135.5 นาโนลาร์ จะได้อุปกรณ์ตรวจวัดที่มีสีแดงเข้ม การตรวจวัดครีอะตินินจะตรวจวัดนาที่ที่ 30 ซึ่งจะเห็นการเปลี่ยนแปลงสีจากแดงเป็นม่วงที่ชัดเจน และใช้กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 2 ขนาดรูปวง 8 ไมโครเมตร

เมื่อนำอุปกรณ์ตรวจวัดมาหาค่า Intensity RGB พบว่ามีแนวโน้มความเป็นเส้นตรง และมี %RSD อยู่ในช่วง 0.4-1.2 ซึ่งถือว่ามีความเที่ยงที่ดี

เมื่อนำอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษมาประยุกต์ใช้ตรวจวัดหาปริมาณครีอะตินินในตัวอย่างปัสสาวะพบว่า มีแนวโน้มในการประยุกต์ใช้งานได้ โดยมีค่าร้อยละของการคืนกลับได้ของตัวอย่างที่ไม่เจือจางและเจือจาง 100 เท่า เท่ากับ 79 และ 99 ตามลำดับ

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

1. หลังการแช่เครื่องแก้วด้วยกรดไนตริก ควรล้างด้วยน้ำปราศจากไอออนให้สะอาดทุกครั้ง ก่อนนำมาทดลอง
2. ในการสังเคราะห์อนุภาคของระดับนาโนควรใช้เทอร์โมมิเตอร์แบบแอลกอฮอล์ แทนการใช้เทอร์โมมิเตอร์แบบโลหะ
3. ก่อนทำการทดลองควรวัดค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคของระดับนาโนทุกครั้งก่อนการใช้งานเพื่อตรวจสอบความใช้ได้ของสาร
4. ในการเตรียมอุปกรณ์ตรวจวัด ควรระวังไม่ให้กระดาษกรองลอยเหนือสารละลาย
5. ในขั้นตอนการตรวจวัด ควรมีการบันทึกเวลาอย่างละเอียด
6. ควรเพิ่มความไวในการวิเคราะห์ โดยเพิ่มจำนวนซ้ำในการแช่อุปกรณ์ตรวจวัดในสารละลายอนุภาคของระดับนาโน และควรลดระยะเวลาในการตรวจวัดจาก 30 นาที ให้เร็วขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เอกสารอ้างอิง

- [1] ศูนย์วิจัยสุขภาพกรุงเทพ. 2561. “หน้าที่ของไต.” [Online]. Available : <http://www.bangkokhealth.com/health/article/หน้าที่ของไต-1037>.
- [2] ไม่ปรากฏชื่อ. 2561. “Creatinine Serum Detection Kit.” [Online]. Available : <https://www.stressmarq.com/products/assay-kits/creatinine-serum-detection-kit-skt-217/?v=5b79c40fa7c2>.
- [3] Debus, B. Kirsanov, D. Yaroshenko, I. Sidorova, A. Piven, A and Legin, A. 2015. “Two low-cost digital camera-based platforms for quantitative creatinine analysis in urine.” *Analytica Chimica Acta*. 895 : 71-79.
- [4] สถาบันนวัตกรรมและพัฒนารการเรียนรู้ มหาวิทยาลัยมหิดล. 2561. “นาโนเทคโนโลยี.” [Online]. Available : <http://www.il.mahidol.ac.th/e-media/nano/Page/Unit2-1.html>.
- [5] Ruchira Wijesena. 2561. “Metallic nanoparticles.” [Online]. Available : <https://niniti.wordpress.com/metallic-nanoparticles/>.
- [6] Andras, K. Alex, Z. 2008. “Nanomechanics of carbon nanotubes.” *Phil. Trans. R. Soc. A*. 366 : 1591-1611.
- [7] Deposition Research Lab Inc. 2561. “Custom Thin Film Fabrication.” [Online]. Available : [http://www.drli.net/thin\\_film\\_fabrication.htm](http://www.drli.net/thin_film_fabrication.htm).
- [8] มาลีณี ทองพันธอยู่. 2561. “เล็กแค่ไหนถึงจะเป็นระดับนาโน.” [Online]. Available : <https://pound1983.wordpress.com/room/basicnano/abtnano/>.
- [9] ณัฐพันธ์ ศุภกา. 2561. “ที่มาของบิดาแห่งนาโนเทคโนโลยี.” [Online]. Available : <http://www.rmutphysics.com/charud/specialnews/7/Feynmam/Feynman8.htm>
- [10] ไม่ปรากฏชื่อ. 2561. “ริชาร์ด ไฟน์แมน บิดาแห่งนาโนเทคโนโลยี.” [Online]. Available : [http://www.neutron.rmutphysics.com/teaching-glossary/index.php?option=com\\_content&task=view&id=1044&Itemid=5](http://www.neutron.rmutphysics.com/teaching-glossary/index.php?option=com_content&task=view&id=1044&Itemid=5).
- [11] ไม่ปรากฏชื่อ. 2561. “Gold Nanoparticles : Properties and Applications.” [Online]. Available : <https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/materials-science/nanomaterials/gold-nanoparticles.html>.
- [12] Peter, N. I-I, L. Derrick, M. Hye-Young, P. Bilal, K. Suprav, M. Ravishanker, S. Jin, L and Chuan-Jian, Z. 2007. “Size Correlation of Optical and Spectroscopic Properties for Gold Nanoparticles.” *J. Phys. Chem.* 111 : 14664-14669.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- [13] Hui, H. Limei, C. Haili, H. Lizhen, C. Zhenlu. Z and Yongdong, J. 2561. 2015. “Fine-tuning the LSPR response of gold nanorod-polyaniline core-shell nanoparticles with high photothermal efficiency for cancer cell ablation.” *J. Mater. Chem. B.* 3 : 5189-5196.
- [14] ณัฐพันธ์ ศุภกา. 2561. “นาโนเทคโนโลยี (nanotechnology).” [Online]. Available : <http://www.mwit.ac.th/~jeed/r-sp/doc/r-sp-30-06-51.pdf>.
- [15] ฐานข้อมูลความปลอดภัยวัสดุนาโน. 2561. “ลักษณะสมบัติเฉพาะ อนุภาคนาโนทองคำ.” [Online]. Available : <http://www.mwit.ac.th/~jeed/r-sp/doc/r-sp-30-06-51.pdf>.
- [16] Sunari, P. John, M and Huai-Yong, Z. 2016. “Metal nanoparticle photocatalysts emerging processes for green organic synthesis.” *Catal. Sci. Technol.* 6 : 320–338.
- [17] นริศรา ชาญนุก. 2561. “ความหมายและการเกิดสีระบบต่างๆ.” [Online]. Available : <http://narisaraom55223.blogspot.com/2012/11/blog-post.html>.
- [18] Valentina Shapiro. 2561. “CMYK vs RGB – when to use which color model.” [Online]. Available : <https://www.mediafrontier.ch/blog/cmyk-vs-rgb/>.
- [19] ไม่ปรากฏชื่อ. 2561. “Convert from HSV to RGB Color Space.” [Online]. Available : <https://www.mathworks.com/help/images/convert-from-hsv-to-rgb-color-space.html>.
- [20] Babita, S. Parwate, DV and Shukla, SK. 2009. “Radiosterilization of Fluoroquinolones and Cephalosporins : Assessment of Radiation Damage on Antibiotics by Changes in Optical Property and Colorimetric Parameters.” *AAPS PharmSciTech* .10(1) : 34-43.
- [21] สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยนเรศวร. 2561. “ทำความเข้าใจระบบสี.” [Online]. Available : <http://www.nupress.grad.nu.ac.th/cmyk-and-rgb/>.
- [22] Nan, G. Pengcheng, H and Fangying, W. 2018. “Colorimetric detection of melamine in milk based on Triton X-100 modified gold nanoparticles and its paper- based application.” *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy.* 192 : 174–180.
- [23] Peng-Cheng, H. Nan, G. Jian-Fang, L. and Fang-Ying, W. 2018. “Colorimetric detection of methionine based on anti-aggregation of gold nanoparticles in the presence of melamine.” *Sensors and Actuators B.* 255 : 2779–2784.

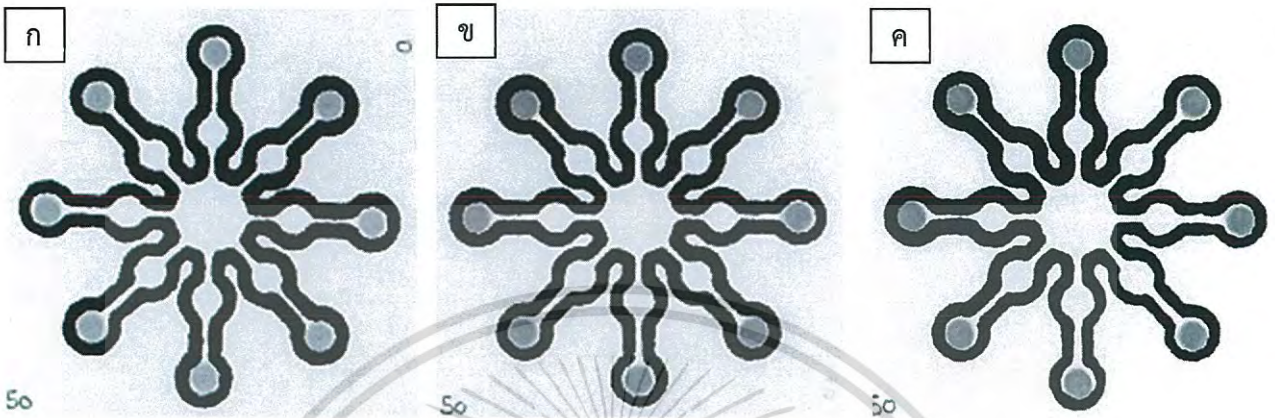
- [24] Xuwang, Z. Yuanyuan, Q. Wenli, S, Shengnan, Y. Xiaofang, P. Shuzhen, L. Jingwei, W and Jiti, Z. 2018. “Colorimetric response of biogenetic gold nanoparticles to mercury (II) ions.” *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*. 508 : 360–365.
- [25] Gongke, W. Shuangli, W. Changling, Y. Guangyue, B and Yufang, L. 2018. “DNA-functionalized gold nanoparticle-based fluorescence polarization for the sensitive detection of silver ions.” *Colloids and Surfaces B : Biointerfaces*. 167 : 150–155.
- [26] Jian-feng, G. Dan-qun, H. Mei, Y. Chang-jun, H. Jun-jie, L and Huan-bao, F. 2016. “Colorimetric detection of Cr (VI) based on the leaching of gold nanoparticles using a paper-based sensor.” *Talanta*. 161 : 819–825.
- [27] จริญญา สิทธิวงศ์. 2556. “การตรวจวัดครีเอตินินในปัสสาวะโดยใช้อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองและปฏิกิริยาจากฟเฟบบนกระดาษ.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- [28] Li, J. Wang, X. Huo, D. Hou, C. Fa, H. Yang, M and Zhang, L. 2017. “Colorimetric measurement of  $Fe^{3+}$  using a functional paper-based sensor based on catalytic oxidation of gold nanoparticles.” *Sensors and Actuators B*. 242 : 1265–1271.
- [29] Guan-Hua, C. Wei-Yu, C. Yu-Chun, Y. Chia-Wei, W. Huan-Tsung, C and Chien-Fu, C. 2014. “Detection of Mercury(II) Ions Using Colorimetric Gold Nanoparticles on Paper-Based Analytical Devices.” *Anal.Chem*. 86 : 6843–6849.
- [30] Yi, H. Xianhui, Z and Haili, Y. 2015. “Gold nanoparticles-based colorimetric and visual creatinine assay.” *Microchim Acta*. 182 : 2037–2043.
- [31] Eloisa, L. Rossella, G. Luciano, B. Jennifer, P. Anna, B and Franco, T. 2009. “Rapid and direct determination of creatinine in urine using capillary zone electrophoresis.” *Clinica Chimica Acta*. 409 : 52–55.
- [32] Pinkesh, GS. Alok, P. Anand, L and Shobhana, KM. 2016 A “simple and rapid creatinine sensing via DLS selectivity, using calix[4]arene thiol functionalized gold nanoparticles”. *Talanta*. 147 : 590–597.
- [33] Jarinya, S and Fuangfa, U. 2015. “Detection of urinary creatinine using gold nanoparticles after solid phase Extraction.” *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 138 : 381–386.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- [34] Saima, H. Peter, J. Wenyue, G. Muhammad, S. Liming, Q and Guobao, X. 2016. "Chemiluminescence of creatinine/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Co<sup>2+</sup> and its application for selective creatinine detection." *Biosensors and Bioelectronics*. 75 : 347–351.
- [35] Hong, D. Ruiyi, C. Jianjun, D. Jiangli, F and Xiaojun, P. 2016, "Gold Nanoparticle-Based Colorimetric Recognition of Creatinine with Good Selectivity and Sensitivity." *Ind. Eng. Chem. Res.* 55 : 12334–12340.
- [36] Melisew, TA. Leshern, K. Nicolette RH. Jonathan, MB. 2018. "Citrate - capped silver nanoparticles as a probe for sensitive and selective colorimetric and spectrophotometric sensing of creatinine in human urine." *Analytica Chimica Acta*. 1007 : 40-49.
- [37] Jun, S and Heikki, T. 2007. "Recent advances in polymer protected gold nanoparticles: synthesis, properties and applications." *Chem. Commun* : 4580–4598.
- [38] Nobuo UEHARA, 2018. "Polymer - functionalized Gold Nanoparticles as Versatile Sensing Materials." *ANALYTICAL SCIENCES*. VOL.26 : 1219-1228.
- [39] Jonathan, B. Venkat, B and Parveen, B. 2016 "Size and Concentration Analysis of Gold Nanoparticles With Ultraviolet-Visible Spectroscopy." *Undergraduate Journal of Mathematical Modeling* : One + Two Vol. 7.
- [40] Debanjana, G and Nitin, C. 2016 "Gold Nanoparticles: Acceptors for Efficient Energy Transfer from the Photoexcited Fluorophores." *Optics and Photonics Journal*. 3 : 18-26.

## ภาคผนวก ก

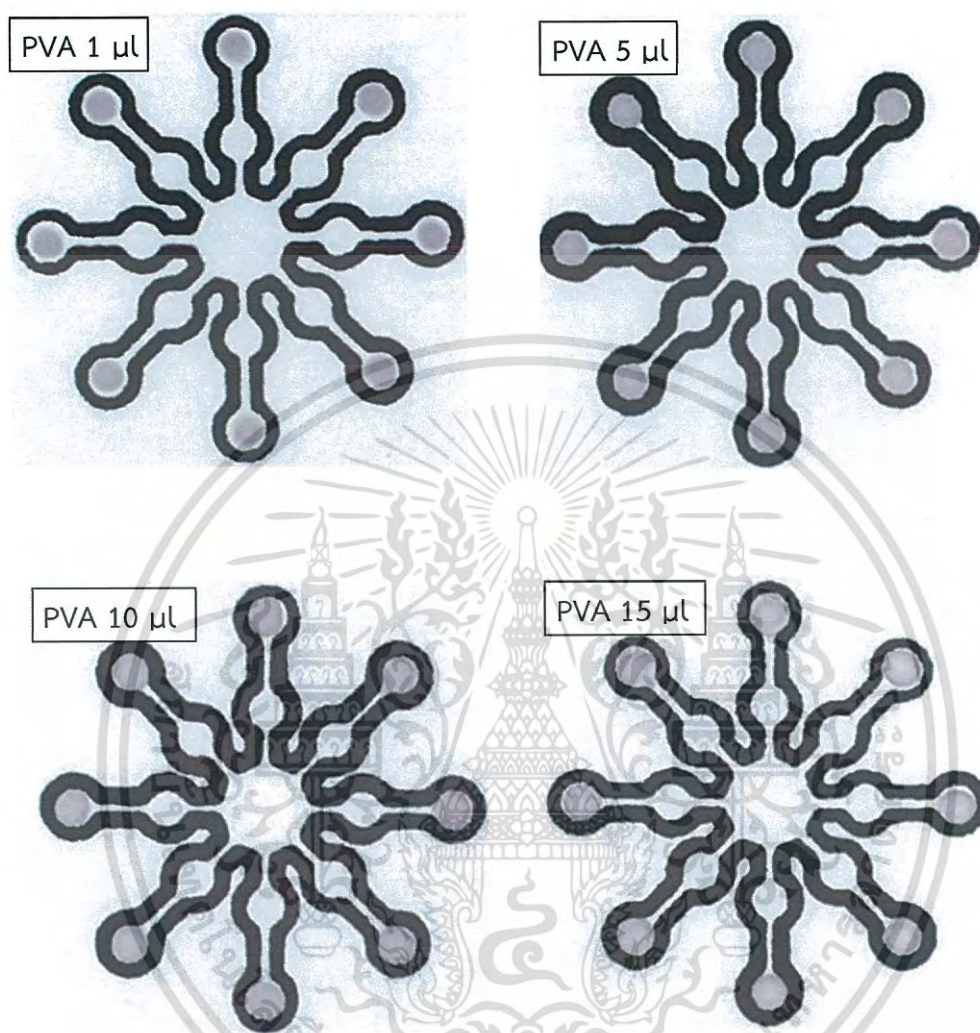
### ศึกษาการตรวจวัดครีอะตินินบนกระดาษกรอง



รูปที่ ก.1 แสดงสี ณ ตำแหน่ง Detection area หลังหยดสารละลายมาตรฐานครีอะตินิน ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก) หยดสารละลายอนุภาคทองระดับนาโน จำนวน 5 ครั้ง (ข) หยดสารละลายอนุภาคทองระดับนาโน จำนวน 10 ครั้ง (ค) หยดสารละลายอนุภาคทองระดับนาโน จำนวน 15 ครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ศึกษาอิทธิพลของ PVA ที่มีผลต่อการรักษาเสถียรภาพอนุภาคทองบนกระดาษกรองและ  
ศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของ PVA

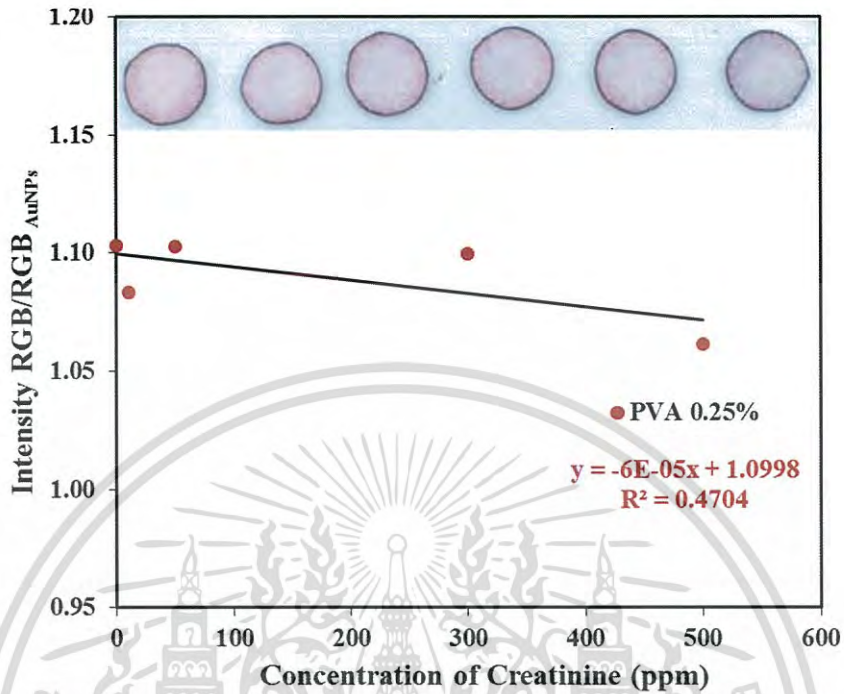


รูปที่ ก.2 แสดงสี ณ ตำแหน่ง Detection area เมื่อใช้ PVA เป็นตัวรักษาเสถียรภาพอนุภาคทอง  
ระดับนาโนบนกระดาษ

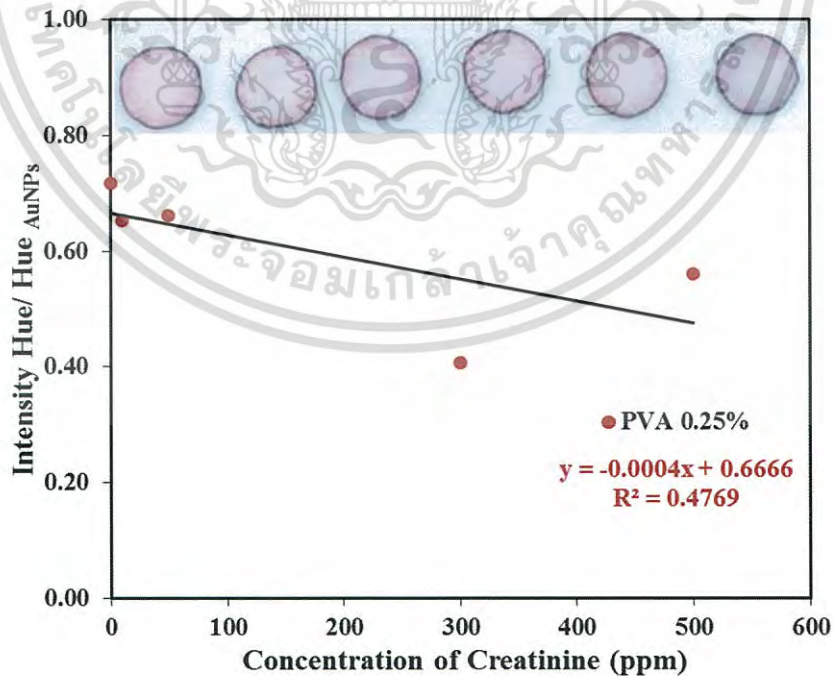
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ข

ผลการศึกษาวีธีการวัดค่า Intensity ของอุปกรณ์ตรวจวัดในรูปแบบต่างๆ

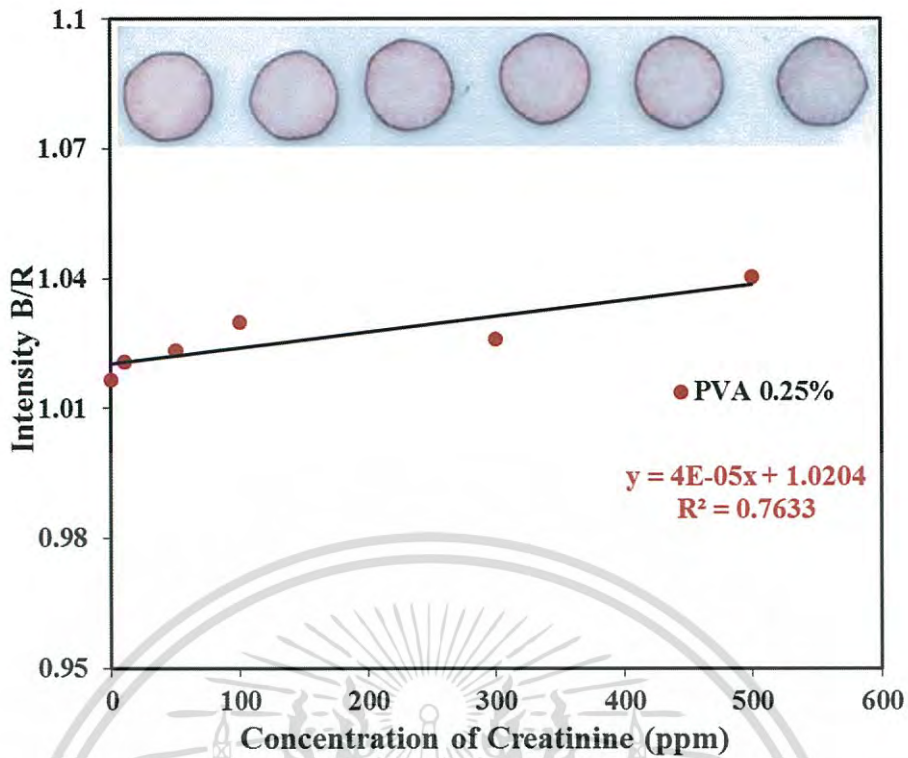


รูปที่ ข.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง intensity RGB/ RGB<sub>AuNPs</sub> กับ ความเข้มข้นของ ครีอะตินินในช่วง 0 - 500 มิลลิกรัมต่อลิตร

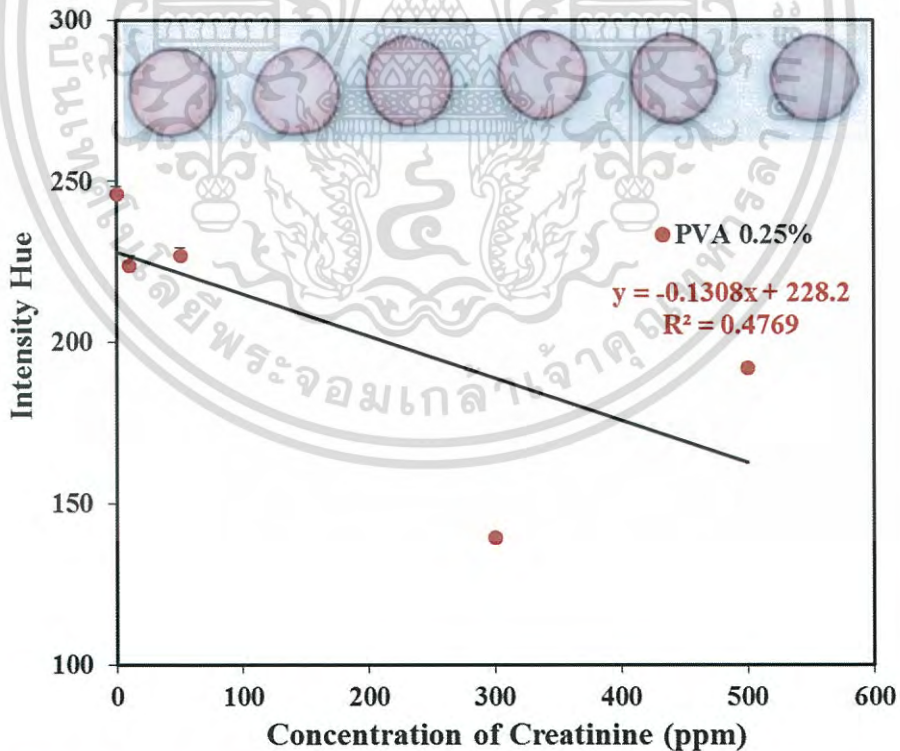


รูปที่ ข.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง intensity Hue/ Hue<sub>AuNPs</sub> กับ ความเข้มข้นของ ครีอะตินินในช่วง 0 - 500 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

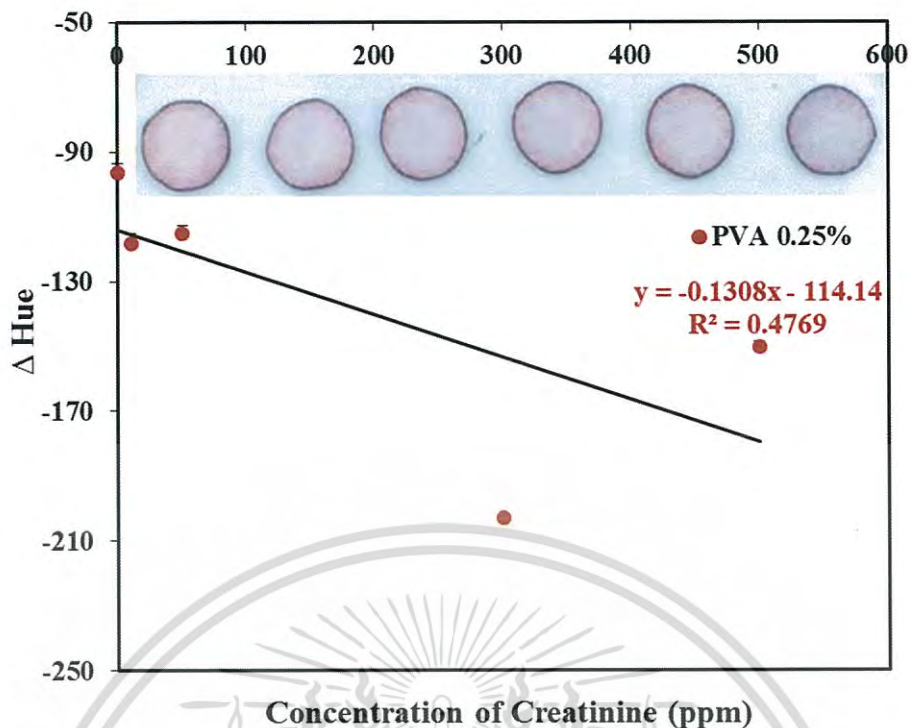


รูปที่ ข.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง intensity Hue กับ ความเข้มข้นของครีอะตินินในช่วง 0 - 500 มิลลิกรัมต่อลิตร

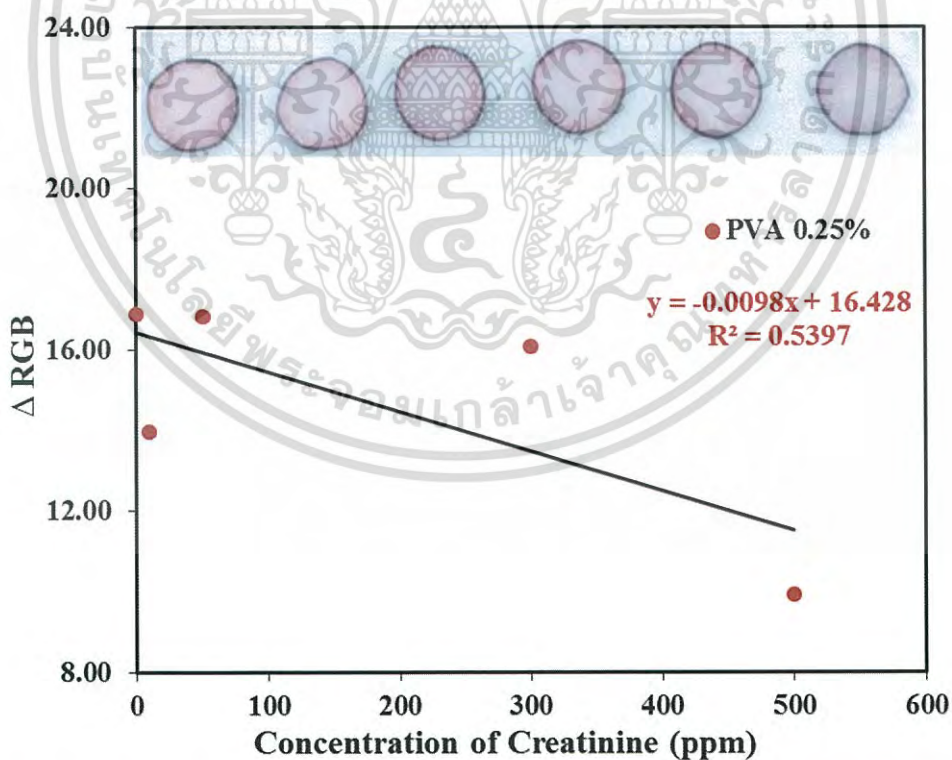


รูปที่ ข.4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง intensity B/R กับ ความเข้มข้นของครีอะตินินในช่วง 0 - 500 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข.5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง  $\Delta \text{Hue}$  กับ ความเข้มข้นของครีอะตินินในช่วง 0 - 500 มิลลิกรัมต่อลิตร



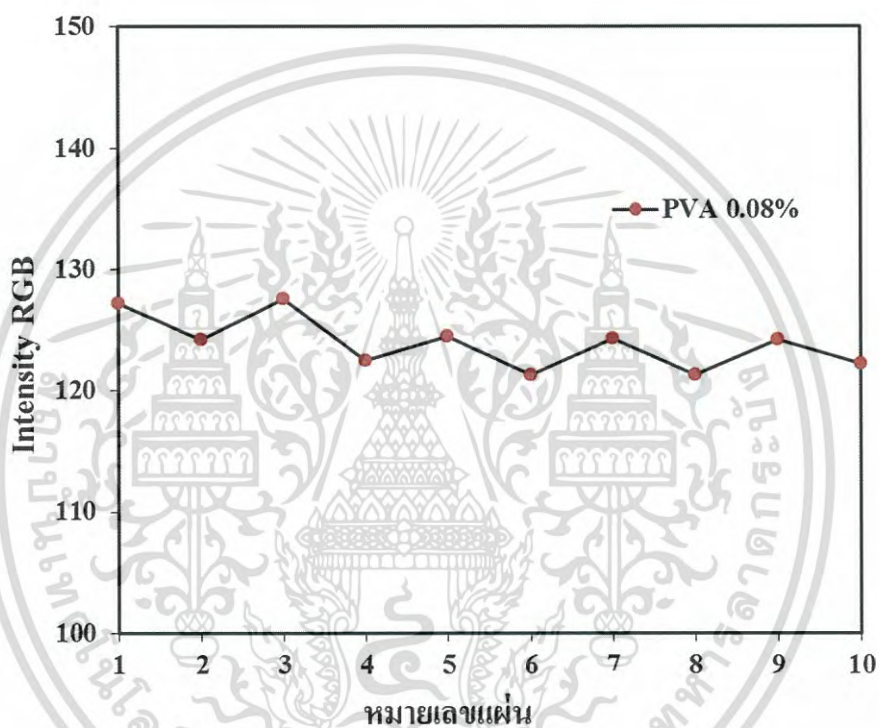
รูปที่ ข.6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง  $\Delta \text{RGB}$  กับ ความเข้มข้นของครีอะตินินในช่วง 0 - 500 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ค

ผลการศึกษาความสม่ำเสมอของการตรึงอนุภาคทองนาโนบนกระดาษแต่ละแผ่น

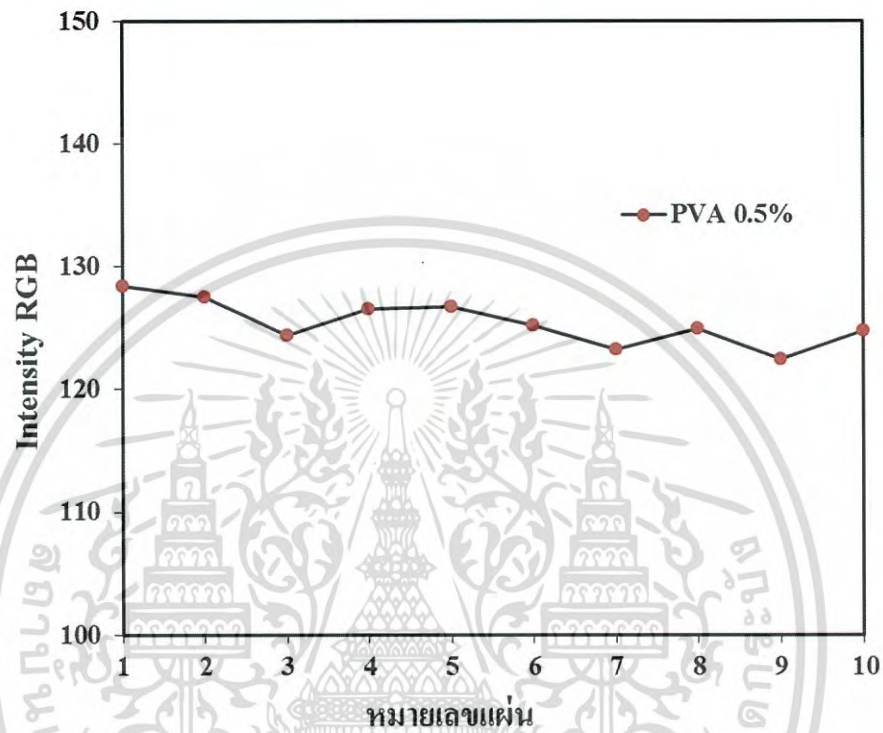
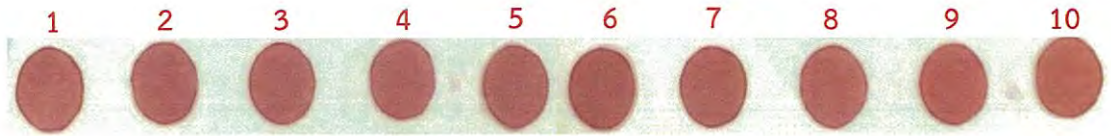
หมายเลขแผ่น



รูปที่ ค.1 กราฟแสดงค่า Intensity RGB ที่หาได้จากอุปกรณ์ตรวจวัดเมื่อใช้ PVA 0.08 % w/v เป็นตัวรักษาเสถียรภาพ

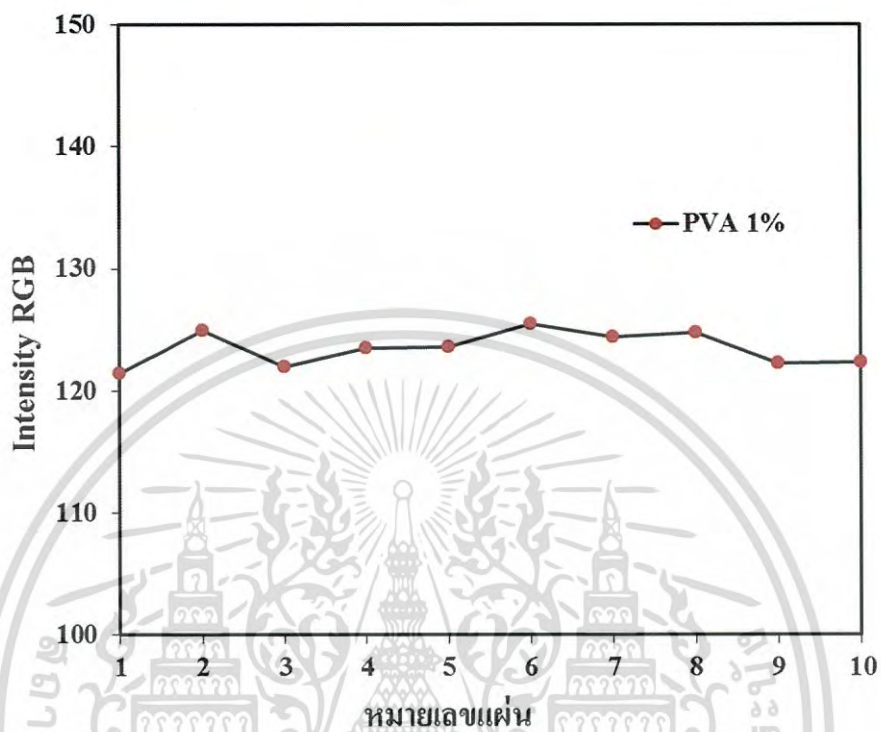
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## หมายเลขแผ่น



รูปที่ ค.2 กราฟแสดงค่า Intensity RGB ที่หาได้จากอุปกรณ์ตรวจวัดเมื่อใช้ PVA 0.5 % w/v เป็นตัวรักษาเสถียรภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ค.3 กราฟแสดงค่า Intensity RGB ที่หาได้จากอุปกรณ์ตรวจวัดเมื่อใช้ PVA 1 % w/v เป็นตัวรักษาเสถียรภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

คำรับรองเล่มโครงการพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษา

วันที่ 22 เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2561

ข้าพเจ้า นายชวกร ตันธนสุทธีวงศ์ รหัสประจำตัว 57050397

นางสาวสุนันท์ โสมเกษตริรินทร์ รหัสประจำตัว 57050545

นายอภิวัฒน์ สุรนันทเสถียร รหัสประจำตัว 57050552

นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชา เคมีอุตสาหกรรม ภาควิชา เคมี

ขอรับรองว่าโครงการพิเศษเรื่อง

ชื่อภาษาไทย อุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษที่ตรึงอนุภาคทองคำโนสำหรับหาปริมาณครีอะตินินในปัสสาวะ โดยอาศัยหลักการตรวจวัดทางสี

ชื่อภาษาอังกฤษ Immobilized - Gold Nanoparticles Paper - Based Analytical Device for Colorimetric Determination of Urinary Creatinine

ปีการศึกษา 2560

เป็นผลงานวิจัยที่ได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่นและได้ผ่านการตรวจสอบความซ้ำซ้อนเรียบร้อยแล้ว และได้แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนงานวรรณกรรมที่ตรวจสอบจากเล่มโครงการพิเศษฉบับสมบูรณ์แล้วด้วยโปรแกรมอักขราวิสุทธิ 0.00 %

ลงชื่อ.....นายชวกร ตันธนสุทธีวงศ์.....

(นายชวกร ตันธนสุทธีวงศ์)

นักศึกษา

ลงชื่อ.....สุนันท์ โสมเกษตริรินทร์.....

(นางสาวสุนันท์ โสมเกษตริรินทร์)

นักศึกษา

ลงชื่อ.....อภิวัฒน์ สุรนันทเสถียร.....

(นายอภิวัฒน์ สุรนันทเสถียร)

นักศึกษา

ข้าพเจ้า ผศ.ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชั้น อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษได้ตรวจสอบ โครงการพิเศษของนักศึกษาข้างต้นแล้ว ขอรับรองว่าเป็นผลงานวิจัยของนักศึกษาจริงและมีเนื้อหาสมบูรณ์ จึงลงชื่อไว้เป็นหลักฐาน

ลงชื่อ..........

(ผศ.ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชั้น)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไป อาจารย์ที่ปรึกษาการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้