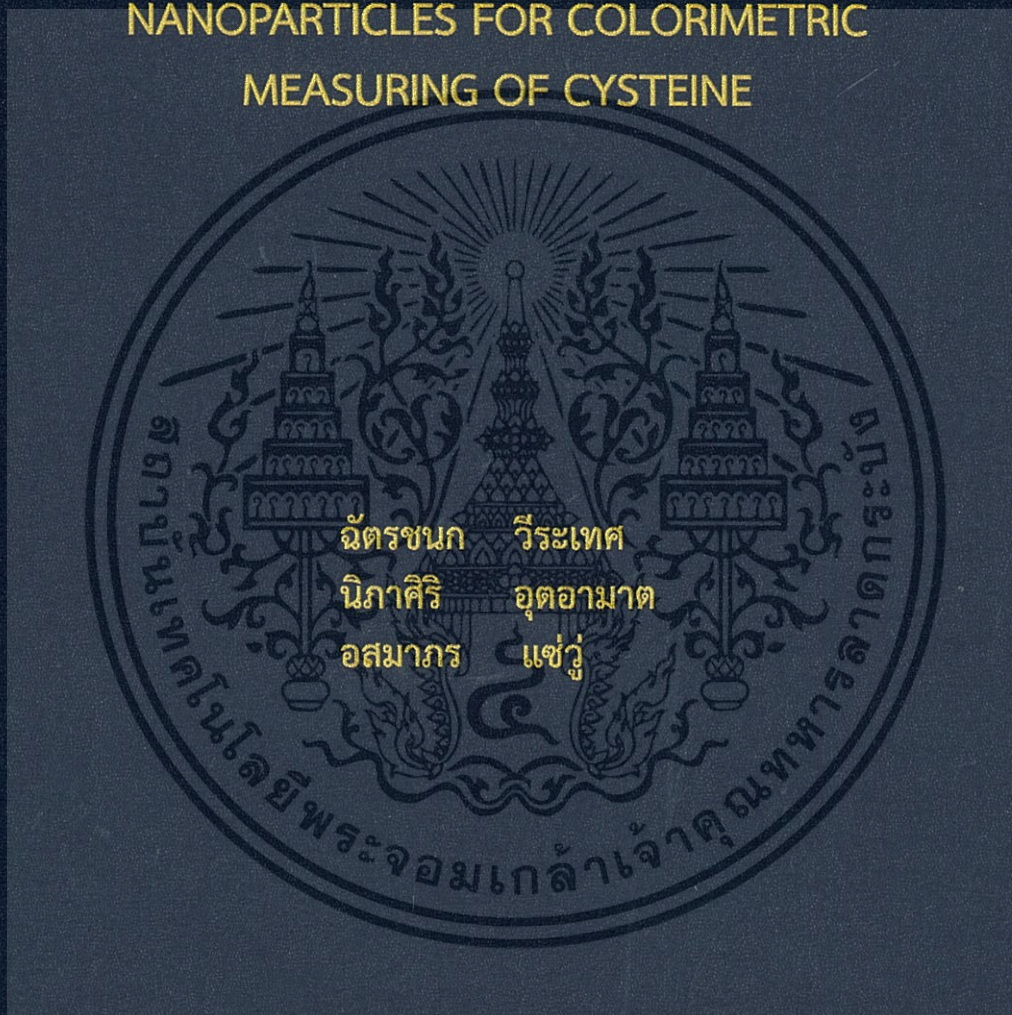


การเพิ่มเสถียรภาพของอนุภาคเงินระดับนาโน โดยใช้เอทิลีนไดเอ
มีนเตตระอะซิติกเอซิดสำหรับการตรวจวัดเชิงสีของซิสเทอีน

EDTA DOUBLE STABILIZATION OF SILVER
NANOPARTICLES FOR COLORIMETRIC
MEASURING OF CYSTEINE



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2560

การเพิ่มเสถียรภาพของอนุภาคเงินระดับนาโน โดยใช้เอทิลีนไดเอ
มีนเตตระอะซิติกเอซิดสำหรับการตรวจวัดเชิงสีของซิสเทอีน

EDTA DOUBLE STABILIZATION OF SILVER
NANOPARTICLES FOR COLORIMETRIC
MEASURING OF CYSTEINE



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2560

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

EDTA DOUBLE STABILIZATION OF SILVER
NANOPARTICLES FOR COLORIMETRIC
MEASURING OF CYSTEINE



A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (INDUSTAIL CHEMISTRY)
DEPARTMENT OF CHEMISTRY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2017

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ

การเพิ่มเสถียรภาพของอนุภาคเงินในระดับนาโน โดยใช้เอทิลีนไดอามีนเตรอะซีติกเอซิดสำหรับการตรวจวัดเชิงสีของซิสเทอีน
EDTA double stabilization of silver nanoparticles for colorimetric measuring of cysteine

ชื่อนักศึกษา

นางสาวฉัตรชนก วีระเทศ รหัสนักศึกษา 57050391
นางสาวนิภาศิริ อุดอามาต รหัสนักศึกษา 57050440
นางสาวอสมมาตร แซ่วู รหัสนักศึกษา 57050557

ปริญญา

วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)

ภาควิชา

เคมี



ปีการศึกษา

2560

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผศ.ดร.เอกรัฐ เดชศรี

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต เคมีอุตสาหกรรม ประจำปีการศึกษา 2560

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ดร.การุณย์ สาดอ่อน ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร.ปานไพสิน สีหาราช กรรมการ	
ผศ.ดร.เอกรัฐ เดชศรี กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การเพิ่มเสถียรภาพของอนุภาคเงินในระดับนาโน โดยใช้เอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิดสำหรับตรวจวัดเชิงสีของซิสเทอีน		
	EDTA double stabilization of silver nanoparticles for colorimetric measuring of cysteine		
ชื่อนักศึกษา	นางสาวฉัตรชนก	วีระเทศ	รหัสนักศึกษา 57050391
	นางสาวนิภาศิริ	อุตอามาต	รหัสนักศึกษา 57050440
	นางสาวอสมภร	แซ่วู้	รหัสนักศึกษา 57050557
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)		
ภาควิชา	เคมี		
คณะ	วิทยาศาสตร์		
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)		
ปีการศึกษา	2560		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.เอกรัฐ เดชศรี		

บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษการสังเคราะห์อนุภาคเงินในระดับนาโน อาศัยปฏิกิริยารีดักชันทางแสงของเงินไอออนในสารละลายพอลิเมทาคลิลิกแอซิด โซเดียมซอลล์ เอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิดถูกใช้เป็นสารเพิ่มเสถียรภาพของอนุภาคเงินระดับนาโน ผลของผลิตภัณฑ์สารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนให้สีน้ำตาลอ่อน ภายใต้การเติมสารละลายซิสเทอีน สีของสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนจะเปลี่ยนจากสีน้ำตาลอ่อนเป็นสีน้ำตาลเข้ม สมบัติทางแสงของอนุภาคเงินระดับนาโนให้การตอบสนองอย่างรวดเร็วเมื่อทดสอบกับซิสเทอีน โดยมีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ระหว่าง 10-200 ppm สมการถดถอยคือ $y = 0.0004x + 0.4387$ และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) เท่ากับ 0.988 ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด หรือ LOD ($3SD/slope$) และขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ หรือ LOQ ($10SD/slope$) มีค่าเท่ากับ 4.065 ppm และ 13.55 ppm ตามลำดับ อุปกรณ์ตรวจวัดเชิงสีของอนุภาคเงินในระดับนาโนสามารถตรวจวิเคราะห์หาซิสเทอีนในสารละลายตัวอย่าง ซึ่งให้ค่าร้อยละการคืนกลับอยู่ในช่วง 100%-103%.

คำสำคัญ : ซิสเทอีน ปฏิกิริยารีดักชันทางแสง อนุภาคเงินในระดับนาโน การตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงเชิงสี

Title	EDTA double stabilization of silver nanoparticles for colorimetric measuring of cysteine			
Students	Miss Chatchanok	Weeratad	Student ID	57050391
	Miss Nipasiri	Autarmat	Student ID	57050440
	Miss Asamaporn	Sae-woo	Student ID	57050557
Degree	Bachelor of Science (Industrial Chemistry)			
Department	Chemistry			
Faculty	Science			
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)			
Academic Year	2017			
Advisor	Assist. Prof. Dr. Ekarat Detsri			

Abstract

In the present study, silver nanoparticles (AgNPs) were synthesized by photo reduction of silver ion in the presence of Poly (methacrylic acid), sodium salt solution. Ethylene diaminetetraacetic acid (EDTA) was used as a double stabilization of AgNPs. The resulting AgNPs product was provided the light brown stable solution. Upon the addition of cysteine solution, the light brown color of AgNPs was changed to dark brown. The optical properties of AgNPs exhibited excellent color changes of cysteine with a quick response time, a wide linear range between 10-200 ppm with a regression equation of $y = 0.0004x + 0.4387$ and a correlation coefficient (R^2) of 0.988. The LOD (3SD/slope) and LOQ (10SD/slope) were 4.065 ppm and 13.55 ppm, respectively. The AgNPs colorimetric sensor could discriminatively detect cysteine in spiked sample with the recoveries values in the range of 100%-103%.

Keywords : Cysteine, Photo reduction, Silver nanoparticle, Colorimetric sensor

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษเล่มนี้สำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์ไปได้ด้วยดี เนื่องจากผู้จัดทำได้รับความอนุเคราะห์เป็นอย่างดียิ่งจากบุคคลผู้มีพระคุณหลายท่านดังนี้

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.เอกรัฐ เดชศรี อาจารย์ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษนี้ ที่ให้ความช่วยเหลือคำปรึกษา ความรู้ความเข้าใจ ตลอดจนคำแนะนำและข้อคิดต่าง ๆ อันเป็นประโยชน์เสมอมา อีกทั้งยังให้คำแนะนำในการปรับปรุงแก้ไขโครงการพิเศษฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์และสำเร็จได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ประจำภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความช่วยเหลือในด้านคำปรึกษา ความรู้ และข้อเสนอแนะ ในการทำโครงการพิเศษฉบับนี้

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ทุกท่านซึ่งได้ให้ความกรุณาช่วยเหลือให้คำแนะนำต่าง ๆ และอำนวยความสะดวกด้านอุปกรณ์และสารเคมี

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ เจ้าหน้าที่ธุรการ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความร่วมมือในการอำนวยความสะดวกเพื่อทำโครงการพิเศษให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ขอขอบคุณพี่ ๆ และเพื่อน ๆ ที่ให้ความช่วยเหลือและให้คำแนะนำตลอดงานวิจัยครั้งนี้

สุดท้ายนี้ผู้จัดทำขอขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ให้กำลังใจและให้ความสนับสนุนในด้านทุนการศึกษามาโดยตลอด หากงานวิจัยเล่มนี้ก่อให้เกิดประโยชน์แก่ท่านใด ผู้วิจัยขอมอบความดีที่พึงปวงให้แก่ บิดา มารดา และคณาจารย์ทุกท่าน ที่ได้ช่วยส่งเสริมให้ผู้วิจัยมีความรู้ความสามารถจนสำเร็จการศึกษา

ฉัตรชนก

วีระเทศ

นิภาศิริ

อุตอามาต

อสมภาร

แจ๋ว

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญรูป.....	ซ
คำย่อ/สัญลักษณ์	ณ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ขอบเขต.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 ซิสเทอีน (Cysteine).....	3
2.2 วิธีวิเคราะห์ซิสเทอีน	3
2.2.1 เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High-performance liquid chromatography; HPLC)	3
2.2.2 เทคนิคแคปิลลารีอิเล็กโทรโฟรีซิส (Capillary electrophoresis; CE).....	4
2.2.3 เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas chromatography; GC)	4
2.3 เซนเซอร์ทางแสง (Colorimetric sensor).....	5
2.4 อนุภาคเงินระดับนาโน (Silver nanoparticles).....	6
2.5 การสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโน (The Synthesis of Silver nanoparticles)	6
2.5.1. วิธีการสังเคราะห์ทางเคมี (Chemical synthesis).....	6
2.5.2. วิธีการสังเคราะห์ด้วยการยิงเลเซอร์ (Laser ablation method).....	8
2.5.3. วิธีเคมีสีเขียว (Green chemical).....	9
2.5.3.1 ปฏิกริยาการใช้แสง (Photosynthesis)	9
2.6 บทความและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	16
3.1 อุปกรณ์.....	16
3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง.....	16
3.3 สารเคมี.....	17
3.4 การสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโน.....	17
3.4.1 การสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโนด้วยวิธีเคมีสีเขียว.....	17
3.4.1.1 วิธีการสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโน.....	17
3.4.2 การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลาย EDTA.....	18
3.4.3 การศึกษาผลของเวลาในการทำปฏิกิริยาของ AgNPs-EDTA กับสารละลายมาตรฐานซิสเทอีนความเข้มข้นต่าง ๆ.....	19
3.4.4 การศึกษาเสถียรภาพของสารละลาย AgNPs-EDTA.....	20
3.4.5 การศึกษาปรากฏการณ์รับรู้ของสารละลาย AgNPs-EDTA.....	21
3.4.6 การศึกษาคูณลักษณะของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณซิสเทอีน.....	21
3.4.6.1 การศึกษาความเป็นเส้นตรง (Linearity).....	21
3.4.7 การศึกษาค่าคืนกลับของสารมาตรฐาน (%Recovery).....	22
3.4.8 การศึกษาขีดจำกัดของการตรวจวัด (Limit of detection) และขีดจำกัดของกาววิเคราะห์ (Limit of quantitation).....	24
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล.....	26
4.1 การสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโน.....	26
4.1.1 การศึกษาความเข้มข้นของสารรักษาเสถียรภาพ PMA.....	26
4.1.2 การศึกษาความเข้มข้นของสารละลาย EDTA.....	30
4.1.3 การศึกษาความสามารถในการรับรู้ของสารละลาย AgNPs-EDTA ในการตรวจวัดซิสเทอีน.....	31
4.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการวิเคราะห์.....	33
4.2.1 ศึกษาความเสถียรของสารละลาย AgNPs-EDTA ในสภาวะที่มีเกลือ.....	33
4.2.2 การศึกษาผลของเวลาในการทำปฏิกิริยาของสารละลาย AgNPs-EDTA และสารละลายซิสเทอีน.....	33
4.3 การศึกษาคูณลักษณะของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณซิสเทอีนด้วยสารละลาย AgNPs-EDTA.....	34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.3.1 การศึกษาความเป็นเส้นตรง (Linearity).....	34
4.3.2 การศึกษาหาค่าร้อยละการคืนกลับของสารมาตรฐาน (%Recovery) และค่าความเที่ยง (Precision).....	35
4.3.3 การศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of detection) และขีดจำกัดของการวิเคราะห์ (Limit of quantitation).....	36
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	37
5.1 สรุปผลการวิจัย	37
5.2 ข้อเสนอแนะ	37
เอกสารอ้างอิง	38
ภาคผนวก.....	42
ภาคผนวก ก.....	43
ภาคผนวก ข.....	49



สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ตารางแสดงการเปรียบเทียบวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์ซีสเทอีน.....	5
3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง.....	17
4.1 แสดงผลที่ได้คำนวณค่าร้อยละการคืนกลับ	36



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
3.1 แผนผังวิธีการสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโนที่มี PMA ความเข้มข้น 5 10 15 20 25 และ 30 mM.....	18
3.2 แผนผังวิธีการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลาย EDTA.....	19
3.3 แผนผังแสดงการศึกษาผลของเวลาในการทำปฏิกิริยาของสารละลาย AgNPs-EDTA กับ สารละลายมาตรฐานซิสเทอีนความเข้มข้นต่าง ๆ.....	20
3.4 แผนผังแสดงการศึกษาเสถียรภาพของสารละลายเงิน AgNPs-EDTA.....	20
3.5 แผนผังวิธีการศึกษาปรากฏการณ์รับรู้ของอนุภาคเงินระดับนาโน.....	21
3.6 แผนผังวิธีการศึกษาความเป็นเส้นตรงของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณซิสเทอีน.....	22
3.7 แสดงแผนภาพหาหาความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (Sample).....	23
3.8 แสดงการหาความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่มีการเติมสารมาตรฐาน (Spiked sample).....	24
3.9 แผนผังวิธีการหาขีดจำกัดการตรวจวัดและขีดจำกัดการวิเคราะห์.....	25
4.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงและสีของสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนที่มี PMA ความเข้มข้นต่าง ๆ (a) 5 mM (b) 10 mM (c) 15 mM (d) 20 mM (e) 25 mM (f) 30 mM.....	26
4.2 แสดงกลไกการเกิดอนุภาคเงินในระดับนาโน.....	30
4.3 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงและสีของสารละลายเมื่อทำการผสม AgNPs และ EDTA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ.....	30
4.4 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารละลาย AgNPs กับ EDTA.....	31
4.5 แสดงสเปกตรัมและสีของสารละลายหลังจาก AgNPs-EDTA ผสมกับ ซิสเทอีนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ.....	32
4.6 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารละลาย AgNPs-EDTA กับซิสเทอีน.....	32
4.7 แสดงความเสถียรของ AgNPs-EDTA ที่มีต่อเกลือ.....	33
4.8 แสดงผลของเวลาที่ความเข้มข้นต่าง ๆ.....	34
4.9 แสดงกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานซิสเทอีน.....	35

คำย่อ/สัญลักษณ์

AgNPs	Silver nanoparticles
PMA	Poly (methacrylic acid), sodium salt
EDTA	Ethylene diaminetetraacetic acid
NaCl	Sodium chloride
Na ₂ SO ₄	Sodium sulphate
Na ₃ PO ₄	Sodium phosphate
UV-vis spectrophotometry	Ultraviolet-visible spectrophotometry
mL	Milliliter (มิลลิลิตร)
mM	Millimolar (มิลลิโมลาร์)
nm	Nanometer (นาโนเมตร)
ppm	Part Per Million (หนึ่งส่วนในล้านส่วน)
μM	Micromolar (ไมโครโมลาร์)
aq	Aqueous
S/N	Signal to Noise Ratio
pH	P function of Hydrogen ion
pKa	ค่าคงที่การแตกตัวของกรด
R ²	Correlation coefficient (ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์)
S.D.	Standard deviation (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)
LOD	Limit of detection (ขีดจำกัดต่ำสุดที่ตรวจวัดได้)
LOQ	Limit of quantitative (ขีดจำกัดต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้)
AgNPs-EDTA	Silver nanoparticle-Ethylene diaminetetraacetic acid

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ซิสเทอีน (Cysteine) เป็นกรดอะมิโนชนิดหนึ่งที่มีประโยชน์ต่อร่างกายที่ช่วยเสริมความแข็งแรงของโครงสร้างโปรตีนเคราติน (Keratin) ที่ใช้ในการสร้างผิว ผม เล็บ ให้มีสุขภาพดี ช่วยในการกำจัดสารพิษ (Detoxification) เช่น สารพิษจากโลหะหนัก ซิสเทอีนมีส่วนช่วยในการป้องกันตับจากการถูกทำลายโดยแอลกอฮอล์ สารพิษจากบุหรี่ ยาพาราเซตามอลเกินขนาด เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Anti-Oxidant) โดยส่งเสริมการสร้างกลูตาไธโอน ช่วยเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกัน (Immune enhancer) โดยซิสเทอีนจะช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันในร่างกาย กระตุ้นการทำงานของเอนไซม์หลายชนิดเพื่อให้ร่างกายต่อต้านสิ่งแปลกปลอม รวมถึงเชื้อแบคทีเรีย และไวรัส [1]

วิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์หาปริมาณของซิสเทอีนมีหลายวิธี โดยเทคนิคส่วนใหญ่ที่ใช้กันทั่วไปที่มีประสิทธิภาพ ความจำเพาะเจาะจง และความแม่นยำสูง เช่น Gas Chromatography (GC), High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) และ Capillary zone Electrophoresis (CE) เป็นต้น ซึ่งขีดจำกัดของเทคนิคต่าง ๆ เหล่านี้จำเป็นต้องอาศัยความชำนาญของผู้ทดลองใช้สารละลายในการทดลองจำนวนมาก เครื่องมือมีขนาดใหญ่ ใช้ต้นทุนในการวิเคราะห์สูง และต้องทดลองในห้องปฏิบัติการเท่านั้น จากขีดจำกัดต่าง ๆ ของการวิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐาน นักวิทยาศาสตร์จึงได้มีการพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาซิสเทอีนเทคนิคอื่น ๆ หนึ่งในนั้นคือ เทคนิคการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงของสี (Colorimetric sensor) ซึ่งให้ประสิทธิภาพเทียบเท่ากับเครื่องมือขนาดใหญ่ โดยเทคนิคดังกล่าวมีความเรียบง่าย ต้นทุนและปริมาณสารละลายที่ใช้ลดลง สามารถเห็นการเปลี่ยนแปลงเบื้องต้นด้วยตาเปล่า จึงทำให้ช่วยลดต้นทุนในเรื่องของค่าใช้จ่ายการดำเนินการตรวจวิเคราะห์ สามารถนำไปใช้ในห้องปฏิบัติการได้ มีความจำเพาะเจาะจงสูง รวดเร็วในการวิเคราะห์ และสามารถลดเวลาในการวิเคราะห์ลงได้

การพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงเชิงสีนิยมใช้ร่วมกับอนุภาคระดับนาโน หนึ่งในอนุภาคระดับนาโนที่นิยมนำมาใช้คือ อนุภาคเงินระดับนาโน ซึ่งคุณสมบัติที่โดดเด่นของอนุภาคเงินระดับนาโน คือ ปรากฏการณ์การเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายที่ขึ้นอยู่กับขนาดและรูปร่างของอนุภาคเงินระดับนาโน และปรากฏการณ์เชิงแสง (Surface Plasmon Resonance; SPR) ทำให้มีคุณสมบัติทางเคมีมากขึ้น มีความเสถียรและว่องไว ด้วยคุณสมบัติต่าง ๆ นักวิทยาศาสตร์จึงได้พัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดเชิงสี จากข้อดีของคุณสมบัติที่โดดเด่นของอนุภาคเงินระดับนาโน ในงานวิจัยนี้จึงได้พัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดเชิงสีในการวิเคราะห์ซิสเทอีนให้มีประสิทธิภาพ โดยการสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโนด้วยปฏิกิริยารีดักชันทางแสงที่ใช้แสงอัลตราไวโอเล็ตเป็นแหล่งให้พลังงาน ซึ่งมีพอลิเมทาคริลิกแอซิด โพลีเมทิลเมทาคริลิก (PMA) เป็นสารรักษาเสถียรภาพ และเอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิด (EDTA) เป็นสารเพิ่มเสถียรภาพ

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1) เพื่อศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโน ที่มี PMA เป็นสารรักษาเสถียรภาพ และ EDTA เป็นสารเพิ่มเสถียรภาพ และมีแสงอัลตราไวโอเล็ตเป็นแหล่งให้พลังงาน
- 2) เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโน เช่น ความเข้มข้น และ เวลาที่ใช้ในการสังเคราะห์ เป็นต้น
- 3) เพื่อศึกษาตัวอย่างจำลองในการวิเคราะห์ซีเอสเทอีน

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

- 1) ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ PMA เป็นสารรักษาเสถียรภาพ และ EDTA เป็นสารเพิ่มเสถียรภาพในขั้นตอนการสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโน
- 2) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมที่ใช้ในการสังเคราะห์สารละลายอนุภาคเงินระดับนาโน
- 3) ศึกษาตัวอย่างจำลองในการวิเคราะห์ซีเอสเทอีน

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) มีความเข้าใจเกี่ยวกับการสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโน โดยปฏิกิริยารีดักชันทางแสงที่มี PMA เป็นสารรักษาเสถียรภาพ และ EDTA เป็นสารเพิ่มเสถียรภาพ
- 2) มีความเข้าใจเกี่ยวกับสภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์สารละลายอนุภาคเงินระดับนาโน
- 3) สารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนที่สังเคราะห์ขึ้นได้สามารถใช้ตรวจวัดซีเอสเทอีนในรูปแบบเชิงสี

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ซิสเทอีน (Cysteine)

ซิสเทอีน เป็นกรดอะมิโนชนิดหนึ่งที่มีจำเป็นต่อร่างกายมีความสำคัญต่อการสังเคราะห์โปรตีน การล้างสารพิษ การทำงานของระบบเผาผลาญอาหาร ช่วยเสริมความแข็งแรงของโครงสร้างโปรตีน เคราติน (Keratin) ช่วยในการผลิตคอลลาเจน เป็นส่วนประกอบของสารต้านอนุมูลอิสระกลูตาไธโอน และมีบทบาทในการช่วยเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกัน โดยซิสเทอีนสามารถพบได้ทั่วไปจากอาหาร เช่น สัตว์ปีก ข้าวสาลี บร็อคโคลี่ ไข่ กระเทียม หัวหอม เป็นต้น ปัญหาการขาดซิสเทอีนก่อให้เกิดผลเสียต่อดับ โรคหัวใจ ผลที่ผิวแห้งแต่หากมีมากเกินไปอาจบ่งบอกถึงโรคต่างๆ เช่น โรคเอดส์ โรคพาร์คินสัน เป็นต้น [2]

2.2 วิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์ซิสเทอีน

ปัจจุบันนี้เทคนิคการวิเคราะห์หาปริมาณของซิสเทอีนมีมากมายหลายเทคนิค ยกตัวอย่างเช่น เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High-performance liquid chromatography; HPLC) เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas Chromatography; GC) และเทคนิคแคปิลลารีอิเล็กโทรโฟรีซิส (Capillary electrophoresis; CE) เป็นต้น

2.2.1 เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High-performance liquid chromatography; HPLC)

เป็นเทคนิคการแยกสารประกอบ (Substances) โดยอาศัยหลักการความแตกต่างของ อัตราการเคลื่อนที่ของสารประกอบระหว่างเฟส 2 เฟส คือ Stationary Phase เฟสอยู่กับที่ (Column) กับเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) เป็นตัวพาไป ซึ่งสารจะถูกแยกออกมาในเวลาที่แตกต่างกัน โดยสารผสมที่อยู่ในตัวอย่างสามารถถูกแยกออกจากกันได้นั้น ขึ้นอยู่กับความสามารถในการเข้ากันได้ดีของสารนั้นกับ Mobile phase หรือ Stationary phase สารประกอบตัวไหนที่สามารถเข้ากันได้ดีกับ Mobile phase จะเคลื่อนที่ผ่าน Column ได้เร็วและสารนั้นก็就会被แยกออกมาก่อน ส่วนสารที่เข้ากันได้ไม่ดีกับ Mobile phase หรือเข้ากันได้ดีกับ Stationary phase จะเคลื่อนที่ผ่าน Column ได้ช้า ก็จะถูกแยกออกมาทีหลัง โดยสารที่ถูกแยกออกมาได้นี้จะถูกตรวจวัดสัญญาณด้วยตัวตรวจวัด (Detector) สัญญาณที่บันทึกได้จากตัวตรวจวัดจะมีลักษณะเป็นพีค ซึ่งจะเรียกว่า โครมาโตแกรม [7] เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง สามารถทดสอบได้ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ โดยการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน ส่วนใหญ่นิยมใช้วิเคราะห์สารประกอบที่ระเหยยาก (Low Volatile Substation) หรือน้ำหนักโมเลกุลสูง (High Molecular Weight Compounds) [3] ซึ่งเทคนิค HPLC สามารถนำมาวิเคราะห์หาปริมาณซิสเทอีนได้ดังตัวอย่างงานวิจัยของ E. Bald [4] โดยใช้เทคนิค เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ในการหาปริมาณ Protein-bound homocysteine ในพลาสมามนุษย์ โดยการนำพลาสมาผสมกับทริสบัฟเฟอร์ pH 2.0 Tri-n-butylphosphine ทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์ และ 2-Chloro-1-methylpyridinium iodide (CMPI) ซึ่งเป็นสารอนุพันธ์แล้วนำไปปั่นกวาน 10 นาทีที่อุณหภูมิห้อง ส่วนที่เป็นตะกอนของโปรตีนถูกแยกออก ส่วนในสุญญากาศเก็บแยกใส่ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุเปลี่ยนแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขวดและนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC ใช้ Reversed-phase column มี Mobile phase คือ ไทรคลอโรอะซิติก เอซิด และเมทานอล ในอัตราส่วน 9:1 (v/v) เป็นตัวพา และตรวจวัดหาปริมาณ Homocysteine ที่ค่าการดูดกลืนที่ 312 นาโนเมตรผลที่ได้คือ มีประโยชน์ในการตรวจหา Homocysteine ที่รวมอยู่ในโปรตีนและในพลาสมาของมนุษย์มีสมการเส้นตรง $y=0.1338x-0.0343$ และสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.9996

2.2.2 เทคนิคแคปิลลารีอิเล็กโทรโฟรีซิส (Capillary electrophoresis; CE)

การเคลื่อนที่ของอนุภาคมีประจุที่อยู่ในรูปของสารละลายหรือสารแขวนลอยที่อยู่ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์โดยมีไฟฟ้าวิ่งผ่าน แคตไอออนในสารละลายจะวิ่งไปที่ขั้วแคโทดซึ่งเป็นขั้วลบ แอนไอออนจะไปขั้วแอโนดซึ่งเป็นขั้วบวก [5] ส่วนอนุภาคที่เป็นกลางจะไม่วิ่งเข้าสู่ขั้วใดเลย โดยหลักการเกี่ยวข้องกับการให้ศักย์ไฟฟ้าสูงตั้งแต่ 10 - 30 กิโลโวลต์แก่หลอดรูเล็ก (Capillary tube) ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 25 ถึง 100 ไมโครเมตร [6] บรรจุด้วยสารละลายอิเล็กโทรไลต์ โดยที่ปลายทั้งสองข้างของหลอดรูเล็กจะจุ่มอยู่ในภาชนะบรรจุสารละลายอิเล็กโทรไลต์ เมื่อมีการให้ศักย์ไฟฟ้าจะทำให้ไอออนในตัวอย่างวิ่งไปที่ขั้วไฟฟ้าแต่ละขั้ว ตัววัดสัญญาณส่วนใหญ่เป็นแบบยูวี ซึ่งให้รูปแบบการตอบสนองเป็นสัญญาณต่อเวลา ส่วนการไหลของอิเล็กโทรไลต์ไปตามหลอดรูเล็กนี้เป็นไปตามรูปแบบ Electroendo-osmotic Flow หรือ EOF ซึ่งทำให้เวลาในการวิเคราะห์ลดลง [7]

ในปี 2015 Alexander Vladimirovich Ivanov [8] ได้เสนอวิธีที่ง่ายและรวดเร็วในการตรวจหา Cysteine และ Homocysteine โดยใช้ Capillary Electrophoresis ในตัวอย่างที่เป็นเลือดของมนุษย์ โดยมีวิธีการตรวจวัดดังนี้ใช้ตัวอย่างเลือดของผู้ที่มีสุขภาพดี จากนั้นเติมสารละลาย เต็มโซเดียมซิติเรท 3.8% ใน TCDI ส่งผลให้ Dithiothietol ลดลง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยง นำส่วนใสที่ได้หลังการปั่นเหวี่ยงฉีดเข้าที่ Capillary ที่ประกอบด้วยซิลิกาเส้นผ่านศูนย์กลาง 50 ไมโครเมตร ความยาว 35 เซนติเมตรที่มี Triethanolamine 0.1 โมลาร์ กรดฟอร์มิก 0.15 โมลาร์ และ 50 ไมโครโมลาร์ Hexadecyltrimethylammonium bromide (pH 3.9) ให้ศักย์ไฟฟ้าประจุลบ ผลการวิเคราะห์คือสามารถตรวจวัด Homocysteine ที่ความเข้มข้นต่ำสุดคือ 2.5 ไมโครโมลาร์ ยิ่งไปกว่านั้นหากทำการสกัดของเหลวด้วยไอโซโพรพานอล จะทำให้การวิเคราะห์ไวขึ้นเป็น 4 เท่า

2.2.3 เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas chromatography; GC)

หลักการของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีเป็นเทคนิคการแยกองค์ประกอบของสารผสม โดยอาศัยความแตกต่างของอัตราการเคลื่อนที่ของแต่ละองค์ประกอบของสารผสมบนเฟสคงที่ (Stationary phase) ภายใต้การพาของเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) สำหรับเครื่อง GC เฟสคงที่คือ สารที่อยู่ภายในคอลัมน์ ส่วนเฟสเคลื่อนที่คือ แก๊สฮีเลียม เมื่อสารที่ต้องการวิเคราะห์ผ่านเข้าสู่เครื่อง GC สารดังกล่าวจะถูกเปลี่ยนสถานะจากของเหลว (Liquid) เป็นแก๊ส (Gas) และส่วนแก๊สของสารผสมจะถูกพาเข้าสู่คอลัมน์โดยแก๊สฮีเลียม ภายในคอลัมน์จะเกิดการแยกสารผสม (Separation) โดยอาศัยการทำปฏิกิริยา (Interaction) ระหว่างสารที่อยู่ภายในคอลัมน์ (Stationary phase) และสารผสม [9] เช่นในงานวิจัยของ Seung-Woon Myunga [10] ได้เสนอวิธีการตรวจวัดโฮโมซิสเทอีนและสารประกอบที่เกี่ยวข้องโดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง (SPME) ร่วมกับ Gas Chromatography–Mass Spectrometry (GC-MS) โดยนำตัวอย่างเลือดผสมกับ Propyl alcohol–เอกสไพริดีน และ Alkyl chloroformate จากนั้นนำสารผสมไปปั่นกวน 3 นาที เติมน้ำกลั่น เส้นใยคาร์ตาไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

SPME จะถูกแช่อยู่ในขวดที่มีสารละลาย Aqueous และแท่งปั่นกววนแม่เหล็กอยู่ ปิดฝาขวดแล้วนำไปปั่นกววน หลังจากทีปฏิบัติการเกิดขึ้นอย่างสมดุลแล้ว นำเข็มที่บรรจุสารจาก SPME ไปฉีดเข้าเครื่อง GC-MS ผลที่ได้คือสามารถตรวจหาซิสเทอีนได้สมการเส้นตรง $y=0.1531x+1.0139$ สัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.986 ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD) 12.5%

ตารางที่ 2.1 ตารางแสดงการเปรียบเทียบวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์ซิสเทอีน

วิธีมาตรฐาน	ข้อดี	ข้อเสีย
HPLC	1. มีความจำเพาะเจาะจงและความไวในการวิเคราะห์สูง 2. รวดเร็ว	1. มีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างหลายขั้นตอน 2. มีขั้นตอนการเก็บดูแลรักษา
CE	1. สามารถวิเคราะห์ปริมาณน้อย ๆ ได้ 2. มีความไวในการวิเคราะห์สูง	1. ราคาแพง 2. สารที่ต้องการวิเคราะห์ต้องมีความบริสุทธิ์สูง
GC	1. มีความไวในการวิเคราะห์สูง 2. สามารถตรวจวัดเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพได้	1. ตัวอย่างต้องสามารถระเหยได้ 2. ราคาสูง

จากตารางที่ 2.1 เป็นการเปรียบเทียบข้อดีและข้อเสียของวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์ซิสเทอีน พบว่าทั้ง 3 วิธีให้ผลที่มีความถูกต้องแม่นยำ สามารถวิเคราะห์สารได้ในระดับความเข้มข้นต่ำ ๆ ได้ แต่ข้อเสียคือ มีราคาแพง ผู้วิจัยจึงได้ทำการพัฒนาวิเคราะห์ซิสเทอีนขึ้น โดยนำวิธีการตรวจวัดทางสี (Colorimetric sensor) มาประยุกต์ใช้ในการตรวจวัด เพื่อลดต้นทุนเครื่องมือและให้ได้ประสิทธิภาพใกล้เคียงกับวิธีมาตรฐาน

2.3 เซนเซอร์ทางแสง (Colorimetric sensor)

ตัวตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงเชิงสีอาศัยหลักการเกิดปรากฏการณ์เรโซแนนซ์พลาสมอนของผิว (Surface plasmon resonance, SPR) คือปรากฏการณ์เชิงแสง [12] โดยมีลักษณะเป็นคลื่นความหนาแน่นของประจุที่เกิดจากการสั่นของอิเล็กตรอนอิสระ มีลักษณะการสั่นที่พร้อมเพรียงกันเป็นปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นบริเวณรอยผิวของโลหะกับสารไดอิเล็กทริก ผลก็คือ เกิดการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย ปัจจุบันได้มีการพัฒนาเซนเซอร์ที่อาศัยการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายหลากหลายงานวิจัยด้วยกัน เช่น งานวิจัยของคุณหญิง เฉิน [11] ได้ทำการสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโนที่มีซิเตรทเป็นสารรักษาเสถียรภาพ ในการตรวจวัด Terbutylazine (TBA) และ Dimethoate (DMT) ซึ่งเป็นพืชตกค้างในผัก โดยอาศัยแรงดึงดูดระหว่างประจุของซิเตรทและ TBA, DMT ทำให้สามารถตรวจวัด TBA ได้ โดยสีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีน้ำเงิน และเมื่อตรวจวัดกับ DMT สีของสารละลายเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีเทา ถัดมาเป็นวิจัยของคุณกนกวรรณ ไชยเอ็นดู [16] ได้ทำการพัฒนาตัวตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงของสีสำหรับวิเคราะห์หาเฟอรัสโดยใช้อนุภาคเงินนาโนคัสเตอร์ที่มีพอลิเมทาคลิกเอซิดทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์และตัวช่วยในการรับรู้ มีหลักการตรวจวัดเฟอรัสโดยประจุของเฟอรัสจะทำปฏิกิริยากับประจุลบของพอลิเมทาคลิกเอซิดทำให้สีของสารละลายอนุภาคเงินไม่วุ่นวายอีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เงินนาโนคัสเตอร์ที่มีพอลิเมทาคลิกเอซิดเปลี่ยนจากสารละลายไม่มีสีเป็นสารละลายสีน้ำตาลเมื่อนำไปตรวจด้วยเครื่อง UV-vis spectrophotometer พบว่าความเข้มข้นของเพอร์สแปรผันตรงกับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 447 nm.

2.4 อนุภาคเงินระดับนาโน (Silver nanoparticles)

อนุภาคเงินนาโนเป็นอนุภาคที่มีขนาดอยู่ในช่วง 1-100 นาโนเมตร ภายในอนุภาคจะมีเงินออกไซด์เป็นส่วนประกอบ มีปริมาณที่เป็นสัดส่วนกับอะตอมของเงิน อนุภาคเงินในระดับนาโนที่สร้างขึ้นจะสามารถสร้างได้หลายรูปแบบ โดยขึ้นอยู่กับวิธีการนำไปใช้ อนุภาคเงินในระดับนาโนจะมีรูปร่างในแบบต่าง ๆ เช่น ทรงกระบอก ทรงกลม ทรงสามเหลี่ยม เป็นต้น [14] รูปร่างส่วนใหญ่ที่นำมาใช้งานจะเป็นทรงกลม และเนื่องจากขนาดของอนุภาคเงินในระดับนาโนเป็นอนุภาคที่มีขนาดเล็ก จึงมีพื้นที่ผิวในการใช้งานสูง ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้หลายวิธี โดยในการสังเคราะห์อนุภาคเงินในระดับนาโนมีหลายวิธีดังนี้

2.5 การสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโน (Synthesis of silver nanoparticles)

2.5.1. วิธีการสังเคราะห์ทางเคมี (Chemical synthesis)

ในการสังเคราะห์อนุภาคเงินในระดับนาโนโดยส่วนใหญ่จะใช้วิธีการสังเคราะห์ทางเคมี เพราะสามารถให้ปริมาณของอนุภาคเงินในระดับนาโนได้มาก ควบคุมสภาวะได้ง่ายและสะดวกในการสังเคราะห์ การสังเคราะห์อนุภาคเงินในระดับนาโนด้วยวิธีการทางเคมีจะอาศัยการเกิดปฏิกิริยารีดักชันของสาร ประกอบด้วยส่วนประกอบหลัก 3 ส่วน คือ 1.เกลือของซิลเวอร์ (Silver salt) 2.ตัวรีดิวซ์ (Reduce agent) เช่น โซเดียมโบโรไฮไดรด์ (NaBH_4) 3.สารให้ความคงตัว (Stabilizer) ส่วนใหญ่ใช้สารพอลิเมอร์ เช่น พอลิเมทาคลิกเอซิดโซเดียมซอลล์ (PMA) ซึ่งสารให้ความคงตัวจะทำให้หน้าที่เป็นตัวยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและการรวมตัวของอนุภาคเงินนาโน [15] เช่น งานวิจัยของ Anna และคณะ [16] สังเคราะห์โดยเริ่มต้นจากการผสมซิลเวอร์ไนเตรตกับ Polyvinyl pyrrolidone จากนั้นค่อยๆ หยด Sodium citrate ลงไปในสารละลายผสม กวนสารละลายเป็นเวลา 1 ชั่วโมง สีสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีเขียว แสดงให้เห็นว่าซิลเวอร์ไอออนถูกเปลี่ยนเป็นอนุภาคเงินนาโน ปฏิกิริยารีดักชันที่เกิดขึ้นจะเริ่มจากการใช้เกลือของซิลเวอร์ โดยในที่นี้คือ สารละลายซิลเวอร์ไนเตรต (AgNO_3) เข้าสู่กระบวนการทำให้เกิดการแตกตัวเป็นซิลเวอร์ไอออน (Ag^+) และไนเตรตไอออน (NO_3^-) จากนั้นจะให้ซิลเวอร์ไอออนเปลี่ยนเป็นซิลเวอร์ $\text{Ag}^0(\text{s})$ ด้วยปฏิกิริยารีดักชัน โดยการรับอิเล็กตรอนจากตัวให้ ดังสมการ [17]



จากนั้นจะให้สารคงตัวเป็นตัวให้อิเล็กตรอน ดังสมการ



จากปฏิกิริยารีดักชันที่กล่าวมาข้างต้นจะเห็นได้ว่าการใช้สารเคมีค่อนข้างมาก ซึ่งสารเคมีเหล่านี้เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต มีความเป็นพิษ และส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ไม่ว่าจะเป็นเอกสารที่นำไปใช้สำหรับการศึกษาวิจัย หรือเอกสารที่นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีต้นทุนในการผลิตสูง อีกทั้งอนุภาคเงินในระดับนาโนบางส่วนมีการปนเปื้อนสารพิษ จึงไม่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในงานชีวการแพทย์ได้ [15]

ในงานวิจัยนี้ได้ใช้วิธีที่ง่ายและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมในการสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโน โดย Mebrahtu Hagos Kahsay และคณะ [18] ได้ใช้สารสกัดจากใบถั่วแปบ (*Dolichos lablab*) เป็น Reducing และ Capping agents ในการสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโน ผสมกับซิลเวอร์ไนเตรท นำไปปั่นกวนแล้วเติมสารละลายแอมโมเนีย จากนั้นนำสารละลายผสมไปปั่นกวนด้วยเครื่องปั่นกวนแม่เหล็ก สีของสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอ่อน ใช้เวลาในการเกิดปฏิกิริยา 1 ชั่วโมง นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้อง เช่น ความเข้มข้นของซิลเวอร์ไนเตรท ความเข้มข้นของการสกัดพืช ปริมาณการสกัดพืช และอุณหภูมิ นำไปวัดด้วยเครื่อง UV-vis spectrophotometer มีค่าการดูดกลืนที่ 426 นาโนเมตร ซึ่งลักษณะอนุภาคเป็นทรงกลมสามารถรูปร่างและขนาดด้วยกล้อง TEM การสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโนด้วยสารสกัดจากใบถั่วแปบสำหรับการรีดักชัน 4-Nitrophenol เป็น 4-Aminophenol ในสภาวะที่มี NaBH_4 มากเกินไป ทำได้โดยผสม 4-Nitrophenol กับ NaBH_4 ในอัตราส่วน 1:1 โมลาร์ แล้วเติมสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโน นำไปวัดค่าการดูดกลืน ผลที่ได้การรีดักชันของ 4-Nitrophenol หรือ 4-Nitrophenol กับ NaBH_4 ที่ไม่มีอนุภาคเงินนาโน คือไม่พบพีคของ 4-Nitrophenol แต่ในสภาวะที่มีอนุภาคเงินระดับนาโน 4-Nitrophenolate ion ถูกสร้างเป็นสารประกอบเชิงซ้อนก่อนที่ 4-Nitrophenol จะถูกรีดิวซ์เป็น 4-Aminophenol ซึ่งสามารถสังเกตได้จากการเปลี่ยนสีจากสีเหลืองอ่อน (4-Nitrophenol) เป็นสีเหลืองเข้ม (4-Nitrophenolate ion)

Zaheer Khan และคณะ [19] ได้ทำการเตรียมและหาลักษณะของอนุภาคเงินนาโนด้วยวิธีการรีดักชันทางเคมี ซึ่งการเตรียมอนุภาคเงินนาโนทำได้โดยการรีดักชันของซิลเวอร์ไนเตรทกับ Aniline ในสภาวะที่มี Cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) ใช้ซิลเวอร์ไนเตรทผสมกับ CTAB ทำหน้าที่เป็นสารรักษาเสถียรภาพ จากสารละลายไม่มีสีจะค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นสีเหลืองอ่อน จากนั้นเติม Aniline ที่ทำหน้าที่เป็นรีดิวซิงเอเจนต์ลงไป สารละลายผสมนี้มีค่า pH 10.2 สามารถหา ลักษณะของอนุภาคเงินนาโนได้ด้วย UV-vis spectrophotometer ดูขนาดและการกระจายได้จากกล้อง TEM นอกจากนี้สีที่ปรากฏสามารถบ่งบอกขนาดและรูปร่างของอนุภาคเงินนาโนได้ ซึ่งอัตราการรีดักชันของซิลเวอร์ไอออนจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของ Aniline เพิ่มขึ้น ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่ารูปร่าง ขนาดและการกระจายของอนุภาคเงินนาโนจะไม่เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญกับความเข้มข้น

ปัจจุบันการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินมีการใช้งานมากมาย ซึ่งอนุภาคเงินนาโนมีคุณสมบัติพิเศษ เช่น ออปติคัล และตัวเร่งปฏิกิริยา คุณสมบัติของอนุภาคเงินนาโนก็ขึ้นอยู่กับขนาดและรูปร่างที่แตกต่างกัน ซึ่งมีการใช้งานอนุภาคเงินนาโนที่หลากหลาย โดยในงานวิจัยนี้ Bahareh Khodashenas และคณะ [20] ได้นำเสนอภาพรวมของการสังเคราะห์รูปร่างของอนุภาคเงินนาโนโดยใช้วิธีการต่าง ๆ เช่น การสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนรูปทรงลูกบาศก์ แบบแท่ง แบบเส้นลวด แบบสามเหลี่ยม แบบดอกไม้ และทรงกลม เป็นต้น ยกตัวอย่างการสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนรูปทรงลูกบาศก์ทำได้ด้วยการรีดักชันของซิลเวอร์ไนเตรทโดยใช้เอทิลีนไกลคอลที่อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส ในสภาวะที่มี Poly (vinyl pyrrolidone; PVP) และ HCl การสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนรูปทรงสามเหลี่ยมเป็นวิธีที่ง่ายและรวดเร็ว โดยมีกล้อง TEM และ UV-vis spectrophotometer ในการสังเกต ในการทดลองใช้ซิลเวอร์ไนเตรทเป็นรีเอเจนต์ Polyvinyl pyrrolidone เป็นสารรักษาเสถียรภาพ และ Hydrazine hydrate เป็นรีดิวซิงเอเจนต์ ซึ่งอนุภาคเงินนาโนรูปทรงสามเหลี่ยมที่

ราคา
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สังเคราะห์ได้มีความยาวขอบ 50-200 นาโนเมตร และการสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนรูปทรงกลมใช้วิธี Polyol ซึ่ง Polyethylene glycol (PEG) ทำหน้าที่เป็นตัวทำละลายและตัวรีดิวซ์ ส่วน Polyvinyl pyrrolidone (PVP) เป็น Capping agent ซึ่งอนุภาคนาโนทรงกลมที่ได้มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 54 นาโนเมตร เป็นต้น ซึ่งวัตถุประสงค์ในงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาวิธีการที่เป็นไปได้สำหรับการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินที่มีรูปร่างเฉพาะ เพื่อความสะดวกในการเลือกวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินที่มีรูปร่างเฉพาะสำหรับการใช้งานในด้านต่าง ๆ และสรุปได้ว่าการสังเคราะห์อนุภาคนาโนรูปทรงกลมและทรงลูกบาศก์สามารถใช้วิธีทางกายภาพ ทางเคมีหรือทางชีววิทยาได้ แต่สำหรับการสังเคราะห์รูปทรงอื่น ๆ อาจจะใช้วิธีทางกายภาพและทางเคมี แม้ว่าวิธีทางเคมีและทางกายภาพมีประสิทธิภาพสูงในการสังเคราะห์อนุภาคนาโน แต่ข้อเสียก็คือใช้สารเคมีที่เป็นพิษในกระบวนการสังเคราะห์ และมีค่าใช้จ่ายสูง ส่วนวิธีการทางชีววิทยามีราคาถูกกว่า เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมและใช้งานง่าย การศึกษาเพื่อสังเคราะห์รูปร่างของอนุภาคนาโนเงินโดยใช้วิธีทางชีวภาพจึงเป็นสิ่งจำเป็น

2.5.2. วิธีการสังเคราะห์ด้วยการยิงเลเซอร์ (Laser ablation method)

การสังเคราะห์อนุภาคนาโนในระดับนาโนโดยการยิงเลเซอร์ของสารที่เป็นโลหะในสารละลาย คุณสมบัติเฉพาะของรูปแบบอนุภาคโลหะและการยิงที่มีประสิทธิภาพขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น ความยาวคลื่นของเลเซอร์ที่กระทบกับโลหะเป้าหมาย ระยะเวลาพัลส์ของเลเซอร์ ระยะเวลาการยิงและผลกระทบจากของเหลวที่เกิดจากสารลดแรงตึงผิว ฟลูเอินซ์ของเลเซอร์เป็นหนึ่งตัวแปรที่สำคัญที่สุด โดยอนุภาคโลหะที่ออกมาจากเป้าหมายต้องใช้พลังงานต่ำที่สุด [21]

ตัวอย่างงานวิจัยของ Nikša Krstulovic [22] ใช้ ZnO : Al₂O₃ (98 wt.% ZnO, 2wt.% Al₂O₃) สำหรับการสังเคราะห์อนุภาคนาโนคอลลอยด์ด้วยวิธีการยิงเลเซอร์ในน้ำ ZnO : Al₂O₃ ถูกแช่อยู่ในบีกเกอร์ที่มีน้ำ Milli-Q บรรจุอยู่ ควบคุมความหนาของน้ำที่เหนือผิว ZnO : Al₂O₃ ให้คงที่ที่ 2 เซนติเมตร ในระหว่างการยิงเลเซอร์เพื่อรักษาค่าประสิทธิภาพของการยิงแสงเลเซอร์ให้คงที่ ส่วนน้ำ MilliQ ถูกนำมาใช้เป็นของเหลวในการสังเคราะห์ ซึ่งในการทดลองนี้ได้ใช้น้ำ DI มาใช้เพื่อเปรียบเทียบ เมื่อ ZnO : Al₂O₃ แหล่งกำเนิดแสงเลเซอร์คือ Nd : YAG ที่ความยาวคลื่น 1064 นาโนเมตร พลังงานที่ส่งไปยังพื้นผิว ZnO : Al₂O₃ เป็น 40% ของพลังงานที่ออกมา สัญญาณของเลเซอร์จะมุ่งเน้นไปที่ ZnO : Al₂O₃ ที่แช่อยู่ในน้ำ การดูดกลืนแสงของสารละลายคอลลอยด์ที่สังเคราะห์ด้วยแสงเลเซอร์ถูกบันทึกในช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 190 ถึง 800 นาโนเมตรโดยใช้ UV-vis spectrophotometer ซึ่งเทคนิคนี้มีความรวดเร็ว ง่าย มีประสิทธิภาพและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ยังง่ายต่อการสังเคราะห์สารละลายคอลลอยด์อนุภาคนาโนที่หลากหลายและอนุภาคนาโนชนิดต่าง ๆ

ตัวอย่างงานวิจัยของ Apiwat Phetsaha และคณะ [23] กล่าวถึงการสังเคราะห์อนุภาคนาโนระดับนาโน (AgNPs) ด้วยวิธีที่รวดเร็วและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และการประยุกต์ใช้ AgNPs สำหรับตรวจวัดโดยใช้พื้นผิวขยายสัญญาณรามาน (SERS) ในการสังเคราะห์ AgNPs ใช้น้ำตาลมอลโทสเป็นตัวรีดิวซ์และให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ โดยได้ศึกษาผลของค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายต่อขนาดและจำนวนของ AgNPs ผลการทดลองพบว่า AgNPs มีโครงสร้างผลึกแบบลูกบาศก์ มีลักษณะเป็นทรงกลมที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเพิ่มขึ้นเมื่อสารละลายมีสภาพเป็นด่างมากขึ้น

เอกสารนี้เนื่องจากการเติม NaOH และเมื่อนำ AgNPs ที่สังเคราะห์ได้ไปตรวจวัดลักษณะเฉพาะของเมทิลีนบลูว่า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยใช้พื้นผิวขยายสัญญาณรามาน ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเกาะกลุ่มกันของอนุภาคและปริมาณของ AgNPs เป็นปัจจัยที่มีบทบาท สำคัญต่อความสามารถในการขยายสัญญาณรามาน นอกจากนี้ยังแสดงให้เห็นถึงศักยภาพของ AgNPs ว่าเป็นวัสดุที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้เพื่อตรวจวัดสัญญาณของ สารอินทรีย์ที่มีความเข้มข้นต่ำด้วยเทคนิค SERS ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

งานวิจัยต่อมาคือกลุ่มวิจัยของ Yavuz MS [24] ได้เสนอการนำส่งยา โดยใช้โครงสร้างนาโนแบบกรง ซึ่งโครงสร้างแบบนี้มีพื้นที่ว่างภายในวัสดุและสามารถใช้บรรจุยาได้ โดยระบบนำส่งนี้สามารถควบคุมการปลดปล่อยยาจากภายนอกได้ โดยการติดพอลิเมอร์ที่อ่อนไหวต่อความร้อนนั่นก็คือ พอลิไอโซพรีนพอลิอะคริลาไมด์เมื่อฉายแสงเลเซอร์ลงบนอนุภาคนาโน แสงจะถูกดูดกลืนและจะถูกเปลี่ยนไปเป็นพลังงานความร้อน ความร้อนนี้จะถูกถ่ายเทไปยัง พอลิไอโซพรีนพอลิอะคริลาไมด์ที่เคลือบอยู่ที่ผิวของอนุภาค ทำให้พอลิเมอร์หดตัว และทำให้ยาที่ฝังอยู่ภายในอนุภาคถูกปลดปล่อยออกมา โดยทั่วไปพอลิไอโซพรีนพอลิอะคริลาไมด์จะมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างที่ช่วง 32-50 องศาเซลเซียส ซึ่งอยู่ในช่วงของความร้อนที่เกิดขึ้นจากโครงสร้างระดับนาโน ทำให้พอลิเมอร์ชนิดนี้ นิยมนำมาติดกับโครงสร้างระดับนาโนเพื่อการนำส่งยา

และงานวิจัยสุดท้ายคือ Takeshi Tsuji และคณะ [25] ได้ทำการเตรียมอนุภาคเงินระดับนาโนทรงกลมด้วยวิธีการยิงเลเซอร์ในสารละลายโพลีไวนิลไพโรลิโดน (PVP) ในการสังเคราะห์นำแผ่นซิลเวอร์ลงในเซลล์ควอตซ์ จากนั้นเติมสารละลายโพลีไวนิลไพโรลิโดน และทำการยิงเลเซอร์เข้าไปที่แผ่นซิลเวอร์ โดยอนุภาคเงินระดับนาโนจะตกลงไปในสารละลายโพลีไวนิลไพโรลิโดน แหล่งกำเนิดเลเซอร์ที่ใช้คือ Nd:YAG ใช้ความยาวคลื่นของแสงเลเซอร์ที่ 355 นาโนเมตร ระยะเวลาในการปล่อยแสงคือ 10 นาที่ ผลที่ได้พบว่า อนุภาคเงินรูปร่างกลมระดับนาโนที่ได้มีขนาดเล็กกว่า 5 นาโนเมตร ประสิทธิภาพของการเกิดอนุภาคเพิ่มมากขึ้นซึ่งเทียบจากการยิงด้วยเลเซอร์ในน้ำ

2.5.3. วิธีเคมีสีเขียว (Green chemical)

2.5.3.1 ปฏิกริยาการใช้แสง (Photosynthesis)

ปฏิกริยาการใช้แสงในการสังเคราะห์อนุภาคเงินในระดับนาโนเป็นการใช้แสงในการสังเคราะห์ เช่น การใช้แสงยูวี โดยจะนำสารละลายซิลเวอร์ในเตรทและตัวรีดิวซ์ผสมเข้าด้วยกัน จากนั้นจะให้พลังงานแสงยูวีเข้าไปในระบบ เพื่อให้สารละลายซิลเวอร์ในเตรทเกิดการแตกตัวและกลายเป็นอนุภาคเงินในระดับนาโน ซึ่งวิธีการนี้เป็นการลดพลังงานที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคเงินในระดับนาโน ใช้ปริมาณสารน้อย อีกทั้งยังสามารถควบคุมสภาวะการสังเคราะห์ได้ งานวิจัยของ Priscila R.Teixeira [26] ได้ใช้เทคนิคโฟโตเคมีคอล ในการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนซึ่งไม่มีความเป็นพิษ ที่มีพอลิเอทิลีนไอมิน (PEI) เป็นสารรักษาเสถียรภาพ โดยมีวิธีการสังเคราะห์ดังนี้ นำ $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 0.88 mM/L ผสมกับ PEI 1g/L และน้ำ 10 ml จากนั้นนำสารละลายผสมไปให้แสง UV ที่ความยาวคลื่น 254 nm เป็นเวลา 30 นาที เนื่องจาก PEI มีบทบาทในสำคัญในการเกิดนิวเคลียสของอนุภาคทองระดับนาโนจึงได้มีการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของ PEI และ Au 5:1 10:1 20:1 พบว่าที่อัตราส่วน 5:1 อนุภาคที่ได้มีขนาดใหญ่และมีรูปร่างไม่แน่นอน อัตราส่วน 10:1 อนุภาคมีขนาดเล็กลงเมื่อเทียบกับที่อัตราส่วน 5:1 และมีอนุภาคเป็นทรงกลม ที่อัตราส่วน 20:1 พบว่าอนุภาคมีรูปร่างกลมที่มีขนาดอนุภาคเล็กกว่าที่อัตราส่วน 5:1 และ 10:1

ในงานวิจัยของคุณ Jinlan Yang และคณะ [27] ได้ทำการสังเคราะห์เอทิลีนไอมินที่ถูกเอกสเคลือบด้วยทองแดงที่มีการรวมตัวกันเป็นอนุภาคนาโน (PEI-CuNCs) เพื่อตรวจหาสารชีวโมเลกุลที่มีการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมู่ไทออล โดยวิธีการสังเคราะห์ดังนี้นำสารละลายเอทิลีนไดอามีนผสมกับคอปเปอร์ (II) ไนเตรตและกรดอะซิติกนำไปให้พลังงานแสงอัลตราไวโอเล็ต สารละลายที่ได้สามารถตรวจหาสารชีวโมเลกุลที่มีหมู่ไทออลได้ ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้ทำการทดสอบกับซิสเทอีนและกลูตาไธโอนผลที่ได้คือสารละลายเกิดการเรืองแสงขึ้นหากเติมสารละลายสารละลายคอปเปอร์ (II) ไอออน โดยมีค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดซิสเทอีนและกลูตาไธโอนเท่ากับ 0.26 μM และ 0.34 μM ตามลำดับ

งานวิจัยของ Khan Behlol Ayaz Ahmed และคณะ [28] ได้ทำการสังเคราะห์อนุภาคเงินในระดับนาโนด้วยการใช้ปฏิกิริยารีดอกซ์ของ Phytoprotein ภายใต้แสงแดดและนำไปเป็นตัวตรวจวัดเชิงสีของปรอท โดยในงานวิจัยนี้ได้สังเคราะห์อนุภาคเงินนาโน (AgNPs) สีเขียวที่ใช้โปรตีนที่ประกอบไปด้วย Ferredoxin-NADP + Reductase (FNR) และ Ferredoxin (FD) โดยมี Capping agents ตัวรักษาเสถียรภาพเป็นโปรตีนรีดอกซ์ และแสงที่เป็นปัจจัยในการก่อตัวของอนุภาคเงินระดับนาโนที่สามารถสังเกตได้จาก FTIRs ผลการทดลองแสดงให้เห็นถึงการสร้างอนุภาคอิสระโดยโปรตีนรีดอกซ์มีหน้าที่ในการเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ของ Ag^+ เป็น Ag^0 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของอนุภาคเงินนาโนที่สร้างขึ้นโดย TEM จะได้อนุภาคเงินนาโนทรงกลมที่มีขนาด 10 ถึง 15 นาโนเมตร AgNPs ที่ถูกเตรียมไว้จะเกิดปฏิกิริยาที่เชื่อมโยงต่อการย่อยสลายของสีย้อมติดอินทรีย์ เช่น Methylene blue, Methyl orange และ Methyl red AgNPs ที่สังเคราะห์ขึ้นได้มีความไวและจำเพาะต่อการวิเคราะห์ไอปรอทในน้ำระดับความเข้มข้นไมโครโมลาร์ ยิ่งไปกว่านั้นสารสกัดจากเชื้อรา FNR/FD ของการสังเคราะห์ AgNPs ยังมีฤทธิ์ต้านจุลชีพที่ดีต่อแบคทีเรียแกรมบวกและลบ

เนื่องจากการกระจายตัวของอนุภาคไททาเนียมไดออกไซด์ระดับนาโนที่ไม่ดี ส่งผลให้การรวมกันของไททาเนียมไดออกไซด์ (TiO_2) มีขนาดใหญ่ ทำให้ฟิล์ม TiO_2 มีรูพรุนไม่เท่ากัน รูพรุนไม่สม่ำเสมอ พื้นผิวของฟิล์มเป็นหลุม และความหนาแน่นของการดูดซับต่ำ Galhenage A. และคณะ [29] จึงได้อธิบายถึงการปรับเปลี่ยนโมเลกุลสารอินทรีย์ของผิวอนุภาคไททาเนียมไดออกไซด์ระดับนาโน เพื่อปรับปรุงความสามารถในการกระจายตัว ซึ่งโมเลกุลสารอินทรีย์คือ เอธิลีนไกลคอลและอะซิทิลอะซิโตน อนุภาค P25-TiO_2 ระดับนาโนถูกนำมาใช้ในปฏิกิริยาโซลโวเทอร์มอล เพื่อดูดซับโมเลกุลอินทรีย์บนพื้นผิวของอนุภาคไททาเนียมไดออกไซด์ระดับนาโน การศึกษาโครงสร้างด้วย TEM พบว่าชั้นโมเลกุลของสารอินทรีย์ปกคลุมอยู่บนพื้นผิวของอนุภาคไททาเนียมไดออกไซด์ระดับนาโนมีโครงสร้างเป็นลักษณะเปลือกหอย นอกจากนี้ผลกระทบของพื้นผิวอนุภาคไททาเนียมไดออกไซด์ระดับนาโนยังมีการปรับปรุงเซลล์โฟโตโวลตาอิกของ Dye-sensitized solar cells (DSSCs) DSSCs ที่มีอนุภาคไททาเนียมไดออกไซด์ระดับนาโนชั้นเดียวจะลดลงเนื่องจากการส่องผ่านแสงเพิ่มขึ้น การดูดซับแสงลดลง หลังจากมีการปรับเปลี่ยนโมเลกุลอินทรีย์ แสงที่สะท้อนมายังด้านบนสุดของชั้นอนุภาคไททาเนียมไดออกไซด์ระดับนาโนถูกป้องกันการสูญเสียพลังงานโดยการส่องผ่านแสง การปรับเปลี่ยนโมเลกุลอินทรีย์ร่วมกับชั้นการกระเจิงแสงได้แสดงให้เห็นของการเพิ่มประสิทธิภาพของอะซิทิลอะซิโตน 7% และ เอธิลีนไกลคอล 5% กว่าฟิล์ม TiO_2 ที่ไม่มีการปรับเปลี่ยนโมเลกุลอินทรีย์ด้วยชั้นการกระเจิงแสง

2.6 บทความและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.6.1 การวิเคราะห์หาระดับโฮโมซิสเทอีนในเลือดมนุษย์ด้วยวิธีการตรวจวัดสีโดยอนุภาคเงินระดับนาโน (Selective determination of homocysteine levels in human plasma using a silver nanoparticle-based colorimetric assay) [30]

งานวิจัยนี้พัฒนาขึ้นโดยคุณ Wiphawee Leesutthiphonchai และคณะ ซึ่งทำการตรวจวัดหาปริมาณโฮโมซิสเทอีน (Hcy) ในตัวอย่างเลือด โดยใช้อนุภาคเงินระดับนาโน (AgNPs) เป็นตัวเซนเซอร์สี ผู้วิจัยได้ศึกษาโฮโมซิสเทอีนร่วมกับกรดอะมิโนอีก 5 ชนิด ได้แก่ Histidine Cysteine Methionine Glutathione และ Alanine โดยได้อาศัยความสามารถในการเหนี่ยวนำให้อนุภาคเงินระดับนาโนเกิดการรวมตัวกัน (Aggregation) ที่แตกต่างกันของโฮโมซิสเทอีนและกรดอะมิโนอีก 5 ชนิด จึงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีและสเปกตรัมของการดูดกลืนเปลี่ยน ผู้วิจัยศึกษาถึงผลกระทบของขนาดของ AgNPs ในการรวมตัวและการเปลี่ยนแปลงความยาวคลื่นในที่มีโฮโมซิสเทอีน ซึ่งการเปลี่ยนแปลงความยาวคลื่นเหล่านี้สามารถตรวจจับได้ด้วยสายตา การทดลองนี้ได้ทดสอบเป็นความเข้มข้นของ AgNPs และเวลาในการเกิดปฏิกิริยา เนื่องจากโครงสร้างของ Hcy มีความคล้ายกับซิสเทอีน จึงต้องทำการหาสภาวะที่เหมาะสมในการทดลอง เพื่อสามารถแยกความแตกต่างระหว่างระหว่าง Hcy และซิสเทอีน ความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการตรวจหา Hcy ผลที่ได้มีช่วงความเป็นเส้นตรง 2-12 ไมโครโมลาร์ โดยมีขีดจำกัดต่ำสุด (LOD) 0.5 ไมโครโมลาร์ และขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ (LOQ) 1.7 ไมโครโมลาร์ การตรวจวัดในวิธีนี้เป็นวิธีที่มีความน่าเชื่อถือ มีความจำเพาะดี ขั้นตอนการวิเคราะห์ง่าย รวดเร็ว และราคาไม่แพง

2.6.2 การสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโนแบบเคมีสีเขียวโดยใช้สารสกัดจากขานอ้อยสำหรับการตรวจวัดสีในของซิสเทอีนในตัวอย่างเซรัม (Green synthesis of silver nanoparticles with bagasse for colorimetric detection of cysteine in serum samples) [31]

Zuguang Shen และคณะ ได้มุ่งเป้าไปที่การนำขานอ้อยมาใช้เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดในการสังเคราะห์เป็นอนุภาคเงินระดับนาโนเพื่อตรวจวัดซิสเทอีนในเซรัมมนุษย์ อนุภาคเงินระดับนาโนถูกสังเคราะห์ขึ้นจาก $[Ag(NH_3)_2]OH$ (Tollen's reagent) และสารสกัดจากขานอ้อย (BAE) ภายใต้การฉายรังสีไมโครเวฟ BAE ถูกนำมาใช้เป็นตัวรีดิวซ์และตัวรักษาเสถียรภาพ เมื่อได้ BAE/AgNPs จึงนำไปตรวจวัดสีของซิสเทอีน โดยการตรวจสอบด้วยตาเปล่าจะเปลี่ยนจากสีเหลืองไปเป็นสีส้มและดูจากสเปกตรัมยูวี-วิซิเบิล รูปร่างและขนาดของ BAE/AgNPs เมื่อนำไปส่องด้วย TEM มีลักษณะอนุภาคเป็นทรงกลม มีช่วงความเป็นเส้นตรง 0.05-1 ไมโครโมลาร์ และมีค่า $R^2 = 0.99816$ ซึ่งในปัจจุบันวิธีนี้ได้ถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางในด้านการแพทย์ เนื่องจากมีความผิดพลาดในการตรวจวัดต่ำกว่า 5% ดังนั้นการศึกษานี้ไม่เพียงแต่เป็นแนวทางในการใช้ประโยชน์จากขานอ้อย แต่ยังเป็นวิธีการใหม่ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนซึ่งสามารถตรวจจับซิสเทอีนได้อย่างรวดเร็วและมีความจำเพาะ

2.6.3 ความจำเพาะของสีต่อการตรวจหาซิสเทอีนด้วยอนุภาคเงินระดับนาโนรูปทรงสามเหลี่ยม (Selectively colorimetric detection of cysteine with triangular silver nanoprisms) [32]

อนุภาคเงินระดับนาโนมีหลากหลายรูปร่างและขนาด อย่างไรก็ตามการวิจัยของ Tong Wu และคณะได้ทำการทดลองโดยใช้อนุภาคเงินระดับนาโนที่มีรูปร่างเป็นสามเหลี่ยม (Triangular silver nanoprisms, TSNs) ในตรวจหา Cysteine ที่มีสถานะเป็นของเหลว แล้วดูการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายเมื่อทำปฏิกิริยากับ TSNs โดยการทดลองนี้ทำให้ Cysteine ความเข้มข้น 160 nmol/L ผลที่ได้คือ เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีที่เห็นได้ชัดเจนด้วยตาเปล่าหลังจากที่ทำปฏิกิริยา TSNs กับซิสเทอีนผ่านไป 30 วินาที เมื่อผ่านไป 3 นาทีเกิดการเปลี่ยนสีของสารละลายจากที่สารละลายน้ำเงินเป็นสารละลายสีน้ำตาลอ่อน ซึ่งเป็นผลจากการที่ TSNs เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างจากรูปสามเหลี่ยมเป็นวงกลมและเปลี่ยนเป็นสีชมพูอมส้มเมื่อทิ้งไว้เป็นระยะเวลาสั้นขึ้น เป็นที่ทราบกันดีว่าการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายอนุภาคระดับนาโนขึ้นอยู่กับรูปทรงและขนาดจึงได้ทดลองสภาวะที่มีผลต่อการตรวจวัดไม่ว่าจะเป็นผลของความแตกต่างโดยทดลองที่ pH 5.0-8.0 ผลที่ได้คือ เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีสูงที่สุดถึง 58 nm ที่ pH 5.5 ผลของอนุภาคเงินเกิดจากการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายได้อย่างชัดเจนและรวดเร็วขึ้นหากมีอนุภาคเงินสูงขึ้น อีกทั้งยังได้ทำการทดลองเพื่อดูความจำเพาะต่อการวิเคราะห์โดยได้ทำการทดลองกับกรดอะมิโนทั้ง 20 ชนิด ผลปรากฏว่ามีเพียง Cysteine ที่เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีอย่างชัดเจนจากสีน้ำเงินเป็นสีชมพูอมส้ม นั้นแสดงถึงความจำเพาะในการทดลองกับ Cysteine

2.6.4 การตรวจวัดซิสเทอีนด้วยวิธีการตรวจวัดเชิงสี โดยใช้ Carboxymethyl cellulose-functionalized ในอนุภาคทองระดับนาโน (A colorimetric sensor for determination of cysteine by carboxymethyl cellulose-functionalized gold nanoparticles) [33]

Xiaoyi Wei และคณะ ทำการตรวจวัดซิสเทอีนในปัสสาวะด้วยวิธีการวัดสีโดยใช้ Carboxymethyl cellulose (CMC) เป็นรีเอเจนต์ อนุภาคทองระดับนาโน (AgNPs) สังเคราะห์โดยใช้ Carboxymethyl cellulose เพื่อป้องกันการรวมตัวกันของอนุภาคทองระดับนาโนจากเกลือ เมื่อเติมโซเดียมคลอไรด์ลงไป ใช้เวลาในการเกิดปฏิกิริยา 10 นาที Carboxymethyl cellulose จะถูกแทนที่ด้วยซิสเทอีน สามารถสังเกตได้จากความยาวคลื่นของการดูดกลืนและสีของสารละลายที่เปลี่ยนแปลง เมื่อทำการเติมซิสเทอีนลงใน Carboxymethyl cellulose-functionalized ในอนุภาคทองระดับนาโนที่มีเกลือด้วย พบว่าสีของสารละลายเปลี่ยนจากสีแดงไปเป็นสีน้ำเงินซึ่งสามารถสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่า ผลการวิจัยชี้ให้เห็นว่าการปรับปรุงการรวมกันที่ดีของอนุภาคนาโนเกิดขึ้นเฉพาะเมื่อมีซิสเทอีนและเกลือ จากผลการทดลองมีช่วงความเป็นเส้นตรง 10.0-100.0 ไมโครโมลาร์ และมีค่า $R^2 = 0.997$ ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีที่ง่าย มีความไวสูง และการตรวจวัดเหมาะสมสำหรับตรวจวัดหาปริมาณซิสเทอีนในตัวอย่างทางชีวภาพ

2.6.5 การตรวจวัดแอลซิสเทอินโดยการจำลองเอนไซม์เพอรอกซีเดสบนดีเอ็นเอ ด้วยอนุภาคทอง/แพลทินัมนาโนคลัสเตอร์ (Colorimetric assay of L-cysteine based on peroxidase-mimicking DNA-Ag/Pt nanoclusters) [34]

หลายปีที่ผ่านมาได้มีงานวิจัยเกี่ยวกับการตรวจหา L-cysteine เป็นจำนวนมากไม่ว่าจะเป็นการตรวจหาด้วยการใช้ HPLC, GC, MS, Electrochemical, Fluorescence spectroscopy ซึ่งเป็นเครื่องมือวิเคราะห์ที่มีราคาสูง ต้องใช้ผู้ที่ชำนาญในการใช้เครื่องนั้น ๆ และไม่เหมาะสำหรับทำการวิเคราะห์หลาย ๆ ครั้ง คุณ Ling-Ling Wu และคณะจึงได้มีการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ L-cysteine ซึ่งสามารถตรวจวัดได้อย่างรวดเร็ว และมีความจำเพาะเจาะจง จึงได้ทำการศึกษาปฏิกิริยาระหว่าง L-cysteine และ DNA-Ag/Pt nanoclusters โดยจำลอง peroxidase ของ DNA-Ag/Pt nanoclusters หรือกระบวนการที่เรียกว่า Peroxidase mimic พบว่า L-cysteine สามารถยับยั้งการทำงานของตัวเร่งปฏิกิริยาได้ การทดลองเหล่านี้ชี้ให้เห็นว่าโมเลกุลของดีเอ็นเอสามารถถูกแทนที่ด้วย L-cysteine ซึ่งจะนำไปสู่การลดลงของประจุบนพื้นผิวนาโนคลัสเตอร์ และการเพิ่มแรงดึงดูดระหว่าง London-Van der Waals ระหว่าง NCs มีประสิทธิภาพ เพื่อทดสอบความจำเพาะของตัวตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงของสีที่ได้พัฒนาขึ้น ในงานวิจัยนี้จึงได้ทำการทดลองกับกรดกรดอะมิโนอื่น ๆ 20 ชนิด พบว่าตัวตรวจวัดนี้สามารถทำการตรวจวัดได้กับ L-cysteine และโฮโมซิสเทอิน ข้อดีของตัวตรวจวัดในงานวิจัยนี้คือ สามารถทำการวิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็ว ประหยัดค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ และสามารถใช้ตรวจวัดได้ในเลือดของคน

2.6.6 การหาปริมาณซิสเทอินด้วยวิธีการเปลี่ยนแปลงสีจากวิธีการแทนที่ของอินดิเคเตอร์ด้วยกลไกการแลกเปลี่ยนโมเลกุล (A colorimetric indicator-displacement assay for cysteine sensing based on a molecule-exchange mechanism) [35]

ในปีค.ศ. 2017 คุณ Zhonghua Xue และคณะได้ทำงานวิจัยพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณของซิสเทอิน โดยใช้ Cu^{2+} และ Pyrocatechol violet (PV) เป็นตัวรับรู้และอินดิเคเตอร์ตามลำดับ โดย PV จะมาจากกรดอะมิโนที่ชื่อว่า Aladdin ในการเตรียมสารละลายอินดิเคเตอร์ทดแทน ทำได้โดยการเตรียมสารละลายผสมของ PV กับ Cu^{2+} เป็นสารละลายในชั้นของของเหลว จากนั้นจะนำเอาสารผสม 50 μM มาเติมสารละลายบัฟเฟอร์ 0.1 M โซเดียมบอเรต pH 9 เติม 100 μM CuCl_4 โดยสารละลายจะเปลี่ยนจากสีชมพูเป็นสีน้ำเงิน จากนั้นคุณ Zhonghua Xue ได้ทำอุปกรณ์ตรวจวัดในรูปแบบของกระดาษ โดยจะนำเอากระดาษไปแช่ในสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมบอเรตที่มี PV ความเข้มข้น 0.4 mM และ คอปเปอร์ไอออนความเข้มข้น 0.8 mM ผสมอยู่ จากนั้นทำให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง เมื่อนำไปทดสอบหา CySH จะเกิดการเปลี่ยนแปลงสีที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่า แต่เนื่องจากการตอบสนองที่ดีของ Cu^{2+} กับ CySH จึงทำให้สารละลายการเกิดเปลี่ยนแปลงสีจากสีชมพูกลายเป็นสีน้ำเงิน ดังนั้น Cu^{2+} มีความสามารถในการดึงดูดซิสเทอินได้มากกว่า PV ที่เป็นอินดิเคเตอร์ ด้วยวิธีการดูการเปลี่ยนแปลงสี โดยมีค่าการดูดกลืนแสงอยู่ที่ 617 nm / 491 นาโนเมตร จากผลการทดลองทั้งหมดในงานวิจัยนี้มีค่าต่ำสุดของการวิเคราะห์เป็น 4.60 μM และ 120 μM สามารถอ่านค่าสัญญาณได้จากเครื่องยูวี-วิสิเบิล และเห็นการเปลี่ยนแปลงได้ด้วยตาเปล่า ยิ่งไปกว่านั้นกระบวนการแทนที่อินดิเคเตอร์ด้วยกลไกการแลกเปลี่ยนโมเลกุลประสบความสำเร็จเป็นอย่างดีจากการประดิษฐ์ของ INHIBIT และสามารถมองเห็นการเปลี่ยนแปลงของสีผ่านกระดาษซึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถูกประยุกต์ใช้เป็นอุปกรณ์ที่ใช้หาปริมาณของซิสเทอีน มีความจำเพาะเจาะจง วิธีนี้จึงเชื่อถือได้และสามารถนำไปใช้ได้จริง

2.6.7 การวิเคราะห์หาปริมาณซิสเทอีนและ Hg^{2+} ด้วยวิธีการเปลี่ยนแปลงสีของอนุภาคทองที่เป็นกลุ่ม (A novel colorimetric assay for rapid detection of cysteine and Hg^{2+} based on gold clusters) [36]

ตัวเร่งปฏิกิริยา BSA-AuNPs ที่มีความสามารถเป็นตัวยับยั้งถูก Yi-Wei Wang และคณะนำมาใช้ในการหาปริมาณของซิสเทอีนและ Hg^{2+} โดยในการเตรียม BSA-AuNPs มาจากกระบวนการ Peroxidase จากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ 3,3,5,5-tetramethylbenzidine ด้วย H_2O_2 ได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารสีฟ้า Yi-Wei Wang ได้ใช้หลักการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงสีที่เกิดขึ้นเพื่อหาปริมาณ ปัจจัยในการวิเคราะห์คือ pH 4 ความเข้มข้นของ BSA-AuNPs (0.9 μM) และความเข้มข้นของ H_2O_2 (5 mM) ซึ่งมีความจำเพาะเจาะจงและความไวในการวิเคราะห์หาปริมาณซิสเทอีนและ Hg^{2+} ที่อยู่ในน้ำ กระบวนการระหว่างซิสเทอีนและ BSA-AuNPs จะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งใช้เวลาในการทดสอบประมาณ 10 นาทีเท่านั้น ผลการทดลองจะมีช่วงของความเข้มข้นตรงอยู่ที่ 0.2 - 60 μM ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดคือ 30 nM ขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์อยู่ที่ 80 nM และมีค่าการดูดกลืนแสงอยู่ที่ 652 นาโนเมตร ยิ่งไปกว่านั้นการพัฒนาวิธีวิเคราะห์นี้ใช้ได้ง่าย และประหยัดค่าใช้จ่าย ปรกาศจากวิธีการเตรียมที่ซับซ้อน และตัวเร่งปฏิกิริยาสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ ดังนั้นวิธีนี้จึงเป็นวิธีการที่สามารถนำไปใช้หาปริมาณซิสเทอีนและ Hg^{2+} ได้ในตัวอย่างจริง

2.6.8 การหาปริมาณซิสเทอีนในยูรินของมนุษย์ด้วยวิธีการเปลี่ยนแปลงสีของอนุภาคทองคำนาโน (Colorimetric sensor for cysteine in human urine based on novel gold nanoparticles) [37]

ในงานวิจัยนี้ คุณ Yan Zhang และคณะได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์ตัวตรวจวัดสีรูปแบบใหม่ โดยการทำอนุภาคทองที่ถูกล้อมรอบด้วยเอนไซม์ Pectinase จากการใช้วิธี มวลโมเลกุลที่แตกตัวด้วยความร้อน (MW-assisted heat) โดยการรวมตัวของอนุภาคทองและเอนไซม์ ซิสเทอีนสามารถรวมตัวกับ P@AgNPs ได้ด้วยแรงยึดเหนี่ยวของพันธะ Au-S และแรงสถิตทางไฟฟ้าภายในโมเลกุล Pectinase สามารถวิเคราะห์สัญญาณได้ด้วยวิธี UV-vis, TEM, FTIR และ Zeta potential เมื่อความเข้มข้นของซิสเทอีนเพิ่มขึ้น สีจะเกิดการเปลี่ยนแปลงที่ละน้อย โดยเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีน้ำเงินและแถบการดูดกลืนจะเปลี่ยนจาก 523 เป็น 650 นาโนเมตรเมื่อเกิดรวมตัวกันของ P@AgNPs กับซิสเทอีน นอกจากนี้ยังได้มีการวิเคราะห์หาปัจจัยต่าง ๆ ในการทดลองเช่น pH โดย pH ที่เหมาะสมต่อการทดลองคือ pH 5 จำนวนของ P@AgNPs และเวลาในการอบ ในผลการทดลอง เวลาที่เหมาะสมต่อการอบคือ 15 นาที ความเข้มข้นของซิสเทอีนที่นำมาวิเคราะห์สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าหรือสามารถมองค่าสัญญาณได้จากเครื่อง ยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรมิเตอร์ได้ Yan Zhang ได้แสดงให้เห็นถึงความจำเพาะเจาะจงของวิธีในการหาปริมาณซิสเทอีนด้วยการทดลอง ซึ่งมีค่าของความเป็นเส้นตรงถึง 2 ค่า คือ 4.8×10^{-9} M ถึง 3.02×10^{-4} M ($R^2 = 0.996$) และ 3.25×10^{-3} M ถึง 1.03×10^{-2} M ($R^2 = 0.999$) มีขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดอยู่ที่ 4.6×10^{-9} M มีค่าของร้อยละการคืนกลับอยู่ที่ 97.4 - 105.2% และค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD) ต่ำกว่า 4.0% ยิ่งไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กว่านั้นงานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จเป็นอย่างมากในการหาปริมาณซิสเทอีนในตัวอย่างปัสสาวะ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงคุณค่าของการประยุกต์ใช้ในวงการชีววิทยาเป็นอย่างมาก

2.6.9 ตัวตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงสีเพื่อวัดปริมาณซิสเทอีนโดยใช้การรวมตัวที่ไม่มีการเชื่อมขวางกันของสารลดแรงตึงผิวฟลูออโรและอนุภาคเงินระดับนาโน (Colorimetric detection of cysteine using non-crosslinking aggregation of fluorosurfactant-capped silver nanoparticles) [38]

ตัวตรวจวัดที่ดีควรมีความจำเพาะต่อตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ อย่างในงานวิจัยของคุณ Shuang Chen และคณะได้พัฒนาตัวตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงสีเพื่อวัดปริมาณซิสเทอีน โดยใช้การรวมตัวที่ไม่มีการเชื่อมขวางกันของสารลดแรงตึงผิวฟลูออโรและอนุภาคเงินระดับนาโน ในงานวิจัยนี้ได้เพิ่มความจำเพาะในการตรวจวัดซิสเทอีนด้วยปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นบนพื้นผิวของอนุภาคเงินระดับนาโนด้วยการที่สารลดแรงตึงผิวที่ไม่มีประจุเป็นลิแกนด์ ทำให้ไม่เกิดการเชื่อมขวางกันของพันธะ จากนั้นจะเกิดปฏิกิริยาที่บริเวณหมู่ไทออลของซิสเทอีนและเงิน ทำให้สามารถตรวจวัดซิสเทอีนได้และข้อดีอื่น ๆ ได้แก่ สามารถทนต่อสภาวะที่มีเกลือสูง ๆ ได้ถึง 500 mM ทนต่อสภาวะ pH ช่วงกว้าง 2-11 ช่วงการวิเคราะห์กว้างส่งผลให้สามารถรองรับสารตัวอย่างที่หลากหลาย สะดวกและประหยัดค่าใช้จ่ายในการเก็บรักษาเมื่อสังเคราะห์สามารถเก็บในอุณหภูมิห้องได้อย่างน้อย 1 เดือน โดยมีช่วงความเป็นเส้นตรงที่ 1.5 – 6 μM ขีดจำกัดการตรวจวัดที่ 0.05 μM เมื่อนำไปใช้กับตัวอย่างที่เป็นปัสสาวะและเลือดของคนได้ ร้อยละค่าคืนกลับได้ 94.8 – 111.3%

2.6.10 การตรวจวัดแอลซิสเทอีนในน้ำด้วยวิธีการตรวจวัดสีที่มีความไวและความจำเพาะสูง โดยใช้อนุภาคโลหะคู่เงิน/พาลาเดียมระดับนาโน (Highly sensitive and selective colorimetric probe for determination of l-cysteine in aqueous media based on Ag/Pd bimetallic nanoparticles) [39]

Khali Farhadi และคณะ ทำการตรวจวัดแอลซิสเทอีนในตัวอย่างยาที่เป็นน้ำด้วยวิธี Colorimetric โดยใช้อนุภาคโลหะคู่เงิน/พาลาเดียมระดับนาโนเป็นรีเอเจนต์ เมื่อตรวจวัดซิสเทอีนและเติมโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 6.6 มิลลิโมลาร์ ใช้เวลาในการเกิดปฏิกิริยา 5 นาที ปรากฏว่าเกิดการรวมตัวกันของอนุภาคโลหะ สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าและใช้เครื่องยูวี-วิซิเบิล สเปกโตรสโกปีเปลี่ยนจากสีเหลืองไปเป็นสีเขียว ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร ผลการทดลองนี้มีช่วงความเป็นเส้นตรง 10-172 นาโนโมลาร์ และมีค่า $R^2 = 0.9912$ วิธีนี้เป็นวิธีที่ง่าย มีความไวและความจำเพาะสูง

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

ในงานวิจัยนี้ได้แบ่งขั้นตอนการดำเนินงานวิจัยเป็น 3 ขั้นตอน ขั้นตอนที่ 1 คือ การสังเคราะห์อนุภาคเงินในระดับนาโนด้วยหลักการสังเคราะห์แบบเคมีสีเขียว โดยใช้ PMA เป็นสารรักษาเสถียรภาพ และใช้ EDTA เป็นสารเพิ่มเสถียรภาพ การสังเคราะห์อนุภาคเงินในระดับนาโนจะอาศัยการเกิดปฏิกิริยารีดักชันทางแสงของซิลเวอร์ไนเตรทกับ PMA และ EDTA ในส่วนของขั้นตอนที่ 2 เป็นขั้นตอนของการประยุกต์ใช้ กล่าวคือได้ทำการศึกษาการรับรู้ของอนุภาคเงินระดับนาโนที่สร้างขึ้นได้แก่ การศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารรักษาเสถียรภาพ การศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการสังเคราะห์ การศึกษาความเป็นเส้นตรงของวิธีวิเคราะห์ การศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนกับซิสเทอีน และการศึกษาผลของเกลือที่มีผลต่อความเสถียรต่อสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนที่สร้างขึ้น และขั้นตอนสุดท้ายคือขั้นตอนที่ 3 ทำการศึกษาตัวอย่างจำลองต่อการวิเคราะห์ซิสเทอีน โดยได้ทำการจำลองตัวอย่างสารละลายซิสเทอีนจากสารละลายมาตรฐาน

3.1 อุปกรณ์

- | | |
|------------------|---------------------|
| 1. ปีกเกอร์ | 5. ซ้อนตักสาร |
| 2. ขวดวัดปริมาตร | 6. กระจกบ่มน้ำกลั่น |
| 3. แท่งแก้ว | 7. หลอดหยดสาร |
| 4. กระจกบ่มดวง | 8. กล้องถ่ายรูป |

3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

- 1) เครื่องวัด pH-meter
- 2) เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 3) ไมโครปิเปตขนาด 1000 μL รุ่น SL-1000XLS ผลิตโดยบริษัท Rainin
- 4) เครื่องกวนสาร และแท่งกวนแม่เหล็ก (Stirrer and magnetic bar) – บริษัท IKA รุ่น C-MAG HS7
- 5) Home-made Ultraviolet Lamp Box (UV-C Lamp Box) - บริษัท PHILIPS รุ่น TUV 16W/G16 T5
- 6) เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Ultra violet – visible spectrophotometer) - บริษัท THERMO SCIENTIFIC รุ่น GENESYS 10S UV-VIS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 สารเคมี

ตารางที่ 3.1 สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	ยี่ห้อและประเทศผู้ผลิต
ซิลเวอร์ไนเตรต (Silver nitrate)	AgNO_3	Merck, USA
กรดอะซิติก (Acetic acid)	CH_3COOH	J.T.Baker, China
โซเดียมอะซิเตต (Sodium acetate)	$\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$	Carlo ERBA, France
พอลิเมทาคริลิกแอซิด โซเดียมซอลล์ (Poly (methacrylic acid) sodium salt solution, PMA)	$(\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_2)_n$, 40% wt in water, $d= 1.251$ g/ml	Sigma-Aldrich, USA
ซิสเทอีน (Cysteine)	$\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2\text{S}$	Merck, USA
เอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิด (Ethylenediaminetetraacetic acid)	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_8\text{N}_2$	Merck, USA
สารละลายบัฟเฟอร์ (Buffer solution) pH4 และ pH7	$\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$	
น้ำกลั่นปราศจากไอออน (น้ำกลั่น)	H_2O	-

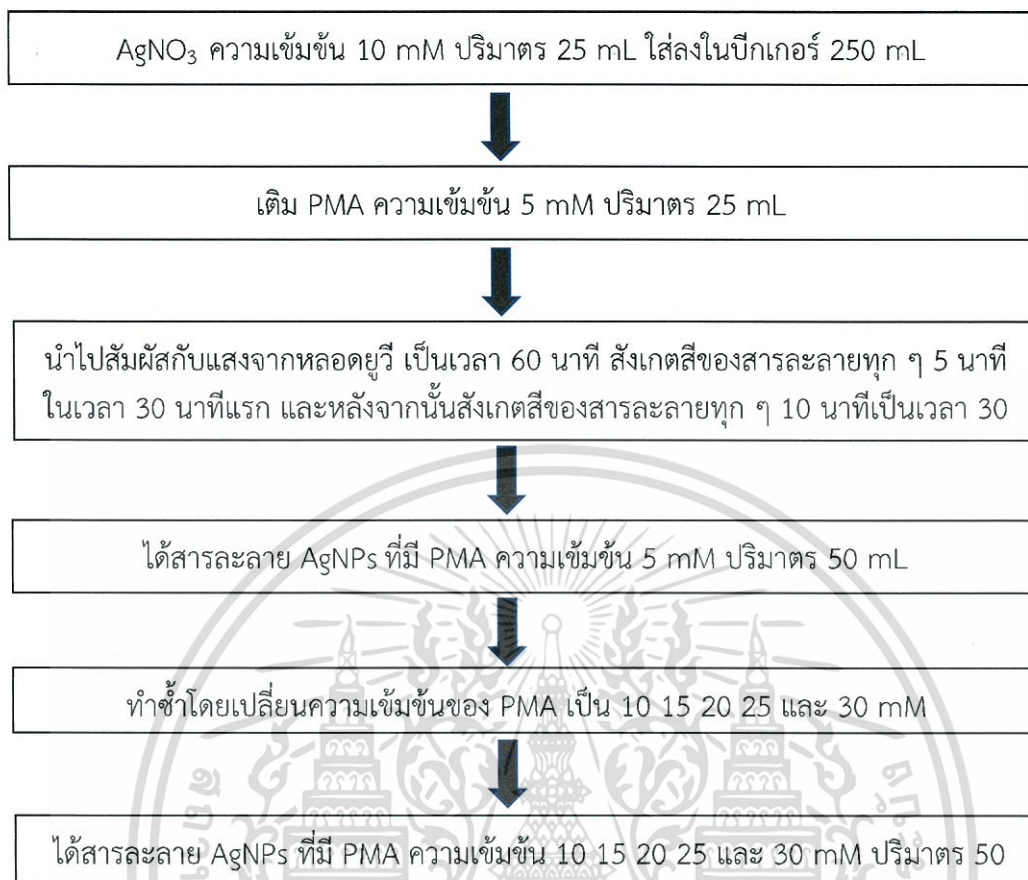
3.4 การสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโน

3.4.1 การสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโนด้วยวิธีเคมีสีเขียว

3.4.1.1 วิธีการสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโน

ดวงสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตความเข้มข้น 10 mM ปริมาตร 25 mL ใส่ลงบีกเกอร์ขนาด 250 mL เตรียมสารละลาย PMA ความเข้มข้น 5 10 15 20 25 และ 30 mM โดยเปิดสารละลาย PMA ปริมาตร 0.0860 mL ใส่ขวดปรับปริมาตรขนาด 100 mL ปรับปริมาตรด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ จะได้สารละลาย PMA ความเข้มข้น 5 mM และปริมาตร 0.1720 0.2581 0.3441 0.4301 และ 0.5161 mL จะได้สารละลาย PMA ความเข้มข้น 10 15 20 25 และ 30 mM ตามลำดับ จากนั้นเติมลงบีกเกอร์ที่ละลายความเข้มข้น นำไปปั่นกวน 10 นาที แล้วนำเข้ากล่องเพื่อสัมผัสกับแสงจากหลอดยูวีที่มีความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร สังเกตสีของสารละลายโดยสารละลายจะเปลี่ยนจากไม่มีสีกลายเป็นสีม่วง ซึ่งสามารถแสดงรูปการทดลองดังรูปที่ 3.1

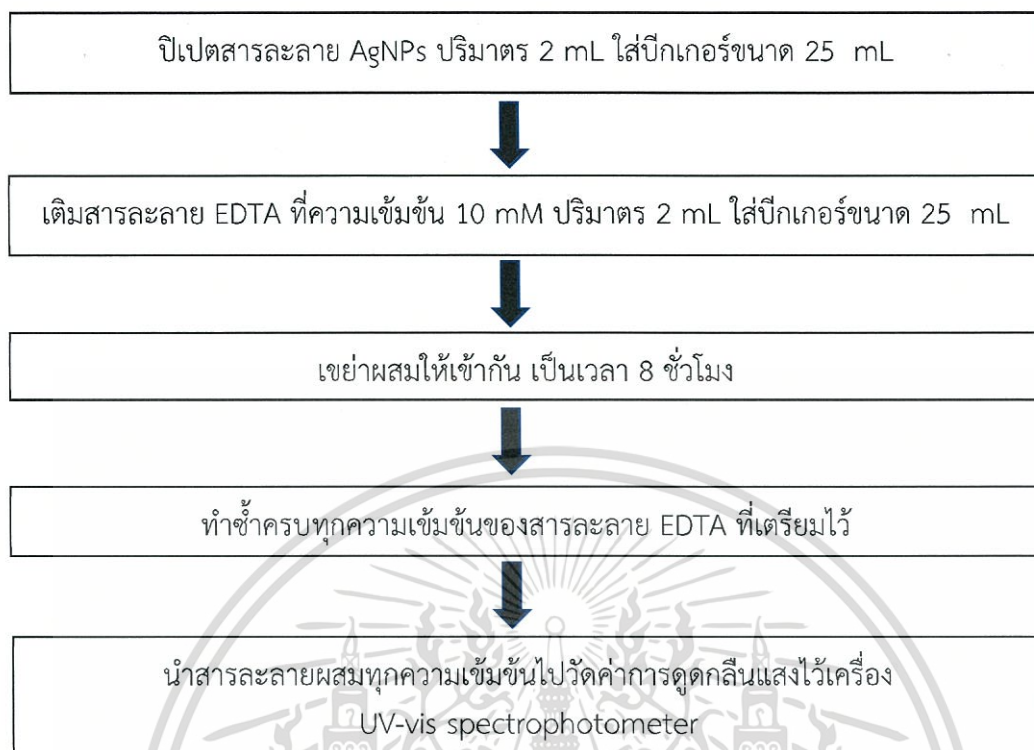
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.1 แผนผังวิธีการสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโนที่มี PMA ความเข้มข้น 5 10 15 20 25 และ 30 mM

3.4.2 การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลาย EDTA

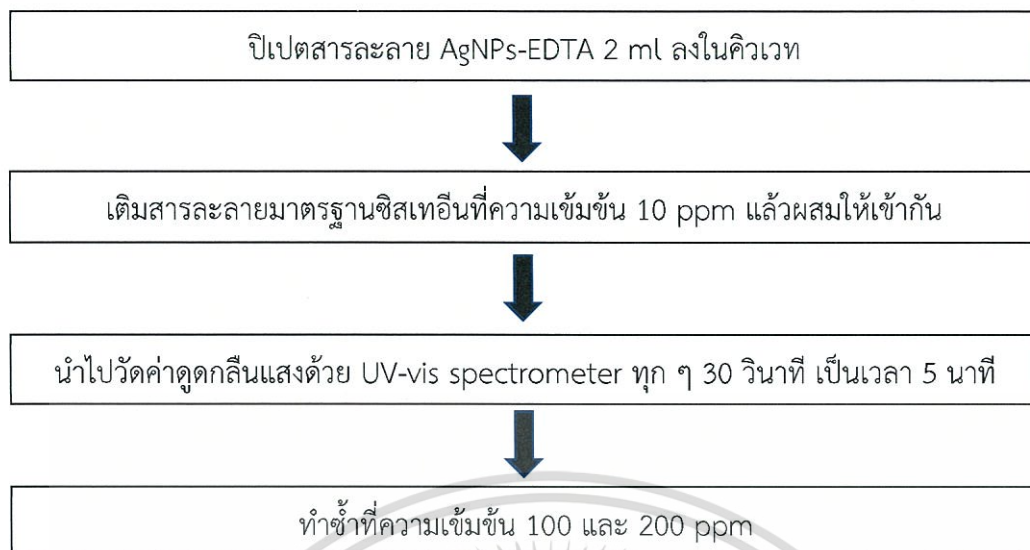
เนื่องจากการสังเคราะห์สารละลาย AgNPs ด้วยปฏิกิริยารีดักชันทางแสงทำให้เกิด Ag^+ ในสารละลาย ซึ่งส่งผลให้สารละลาย AgNPs ที่สังเคราะห์ขึ้นมีความไม่เสถียร ดังนั้นในงานจึงเลือกศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลาย EDTA เพื่อทำหน้าที่เป็นสารเพิ่มความเสถียรของสารละลาย AgNPs การทดลองทำได้โดยการเตรียมสารละลาย EDTA ความเข้มข้น 10 25 30 40 50 75 และ 100 mM และสารละลาย AgNPs ในอัตราส่วน 1:1 สังเกตสีของสารละลาย นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-vis spectrophotometer ซึ่งสามารถแสดงรูปการทดลองดังรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 แผนผังวิธีการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลาย EDTA

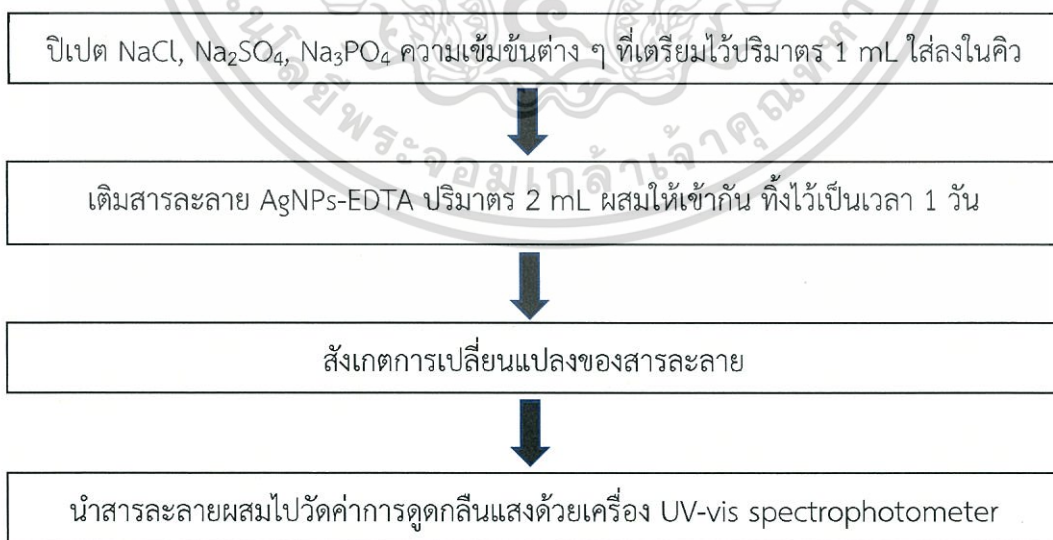
3.4.3 การศึกษาผลของเวลาในการทำปฏิกิริยาของ AgNPs-EDTA กับ สารละลายมาตรฐานซีสเทอีนความเข้มข้นต่าง ๆ

เนื่องจากการทำปฏิกิริยาของสารละลาย AgNPs-EDTA กับ สารละลายมาตรฐานซีสเทอีนต้องอาศัยเวลาในการเกิดปฏิกิริยา จึงได้ทำการทดลองโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงทุก 30 วินาทีเป็นเวลา 2 นาที โดยผสมสารละลาย AgNPs-EDTA และสารละลายมาตรฐานซีสเทอีนที่ความเข้มข้น 10 100 และ 200 ppm ในอัตราส่วน 2:1 แล้วจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-vis spectrometer ทุก 30 วินาที เป็นเวลา 2 นาที โดยขั้นตอนการทดลองมีแสดงในรูปที่ 3.3



รูปที่ 3.3 แผนผังแสดงการศึกษาผลของเวลาในการทำปฏิกิริยาของสารละลาย AgNPs-EDTA กับ สารละลายมาตรฐานซีสเทอีนความเข้มข้นต่าง ๆ

3.4.4 การศึกษาเสถียรภาพของสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนเตรียม NaCl, Na₂SO₄, Na₃PO₄ ความเข้มข้น 0.001 0.01 0.1 0.5 1 2 3 4 5 10 25 50 75 และ 100 mM ดังรูปที่ 3.5 3.6 และ 3.7 ตามลำดับ โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย ผสมกับสารละลาย AgNPs-EDTA ในอัตราส่วน 1:2 สังเกตการเปลี่ยนแปลงและนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-vis spectrophotometer ซึ่งสามารถแสดงการทดลองดังรูป 3.4

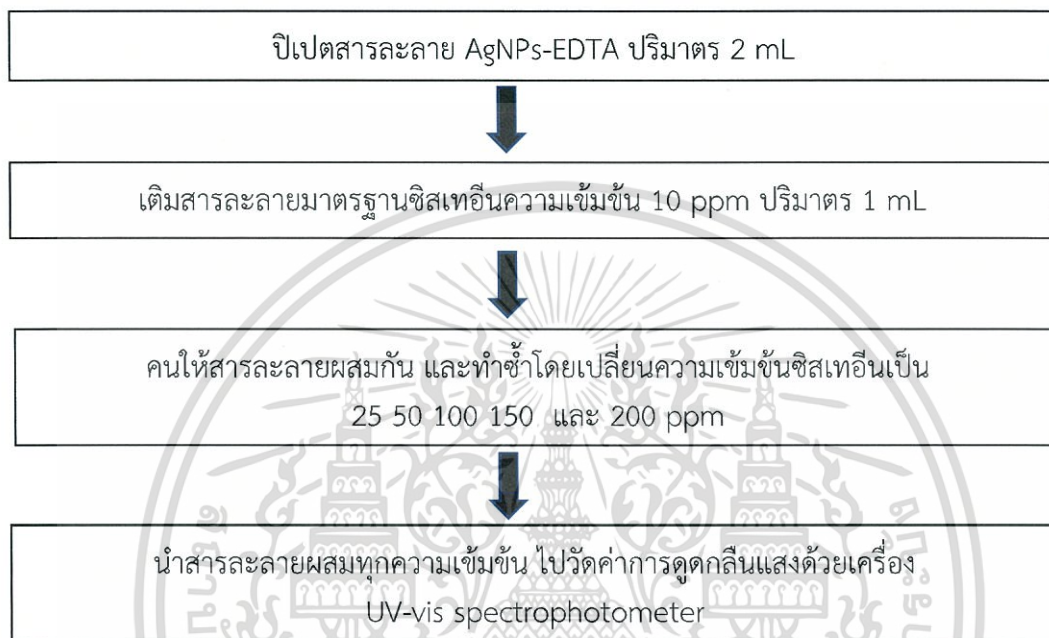


รูปที่ 3.4 แผนผังแสดงการศึกษาเสถียรภาพของสารละลายเงินอนุภาคระดับนาโน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.5 การศึกษาปรากฏการณ์รับรู้ของสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโน

เตรียมสารละลาย AgNPs-EDTA มาผสมกับสารละลายมาตรฐานซีสเทอีนที่ความเข้มข้น 10 25 50 100 150 และ 200 ppm ในอัตราส่วนปริมาตรเท่ากับ 2 : 1 mL สังเกตสีของสารละลายและนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-vis spectrophotometer ซึ่งสามารถแสดงรูปการทดลองดังรูปที่ 3.5

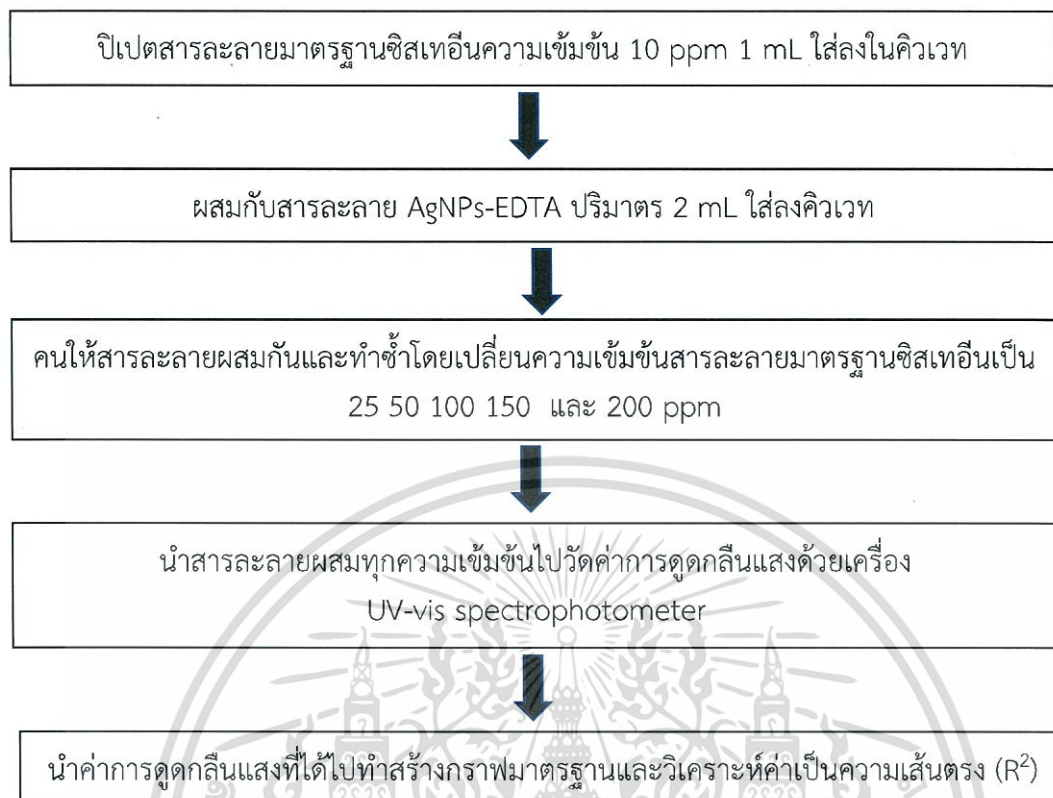


รูปที่ 3.5 แผนผังวิธีการศึกษาปรากฏการณ์รับรู้ของอนุภาคเงินระดับนาโน

3.4.6 การศึกษาคุณลักษณะของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณซีสเทอีน

3.4.6.1 การศึกษาความเป็นเส้นตรง (Linearity)

วิธีการศึกษาความเป็นเส้นตรงของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณซีสเทอีนด้วยสารละลาย AgNPs-EDTA และสารละลายมาตรฐานซีสเทอีนที่ความเข้มข้น 10 25 50 100 150 และ 200 ppm ในอัตราส่วน 2:1 mL สามารถศึกษาโดยการสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานซีสเทอีนแล้วทำการวิเคราะห์ค่าความเป็นเส้นตรง (R^2) ซึ่งสามารถแสดงการทดลองดังรูปที่ 3.6

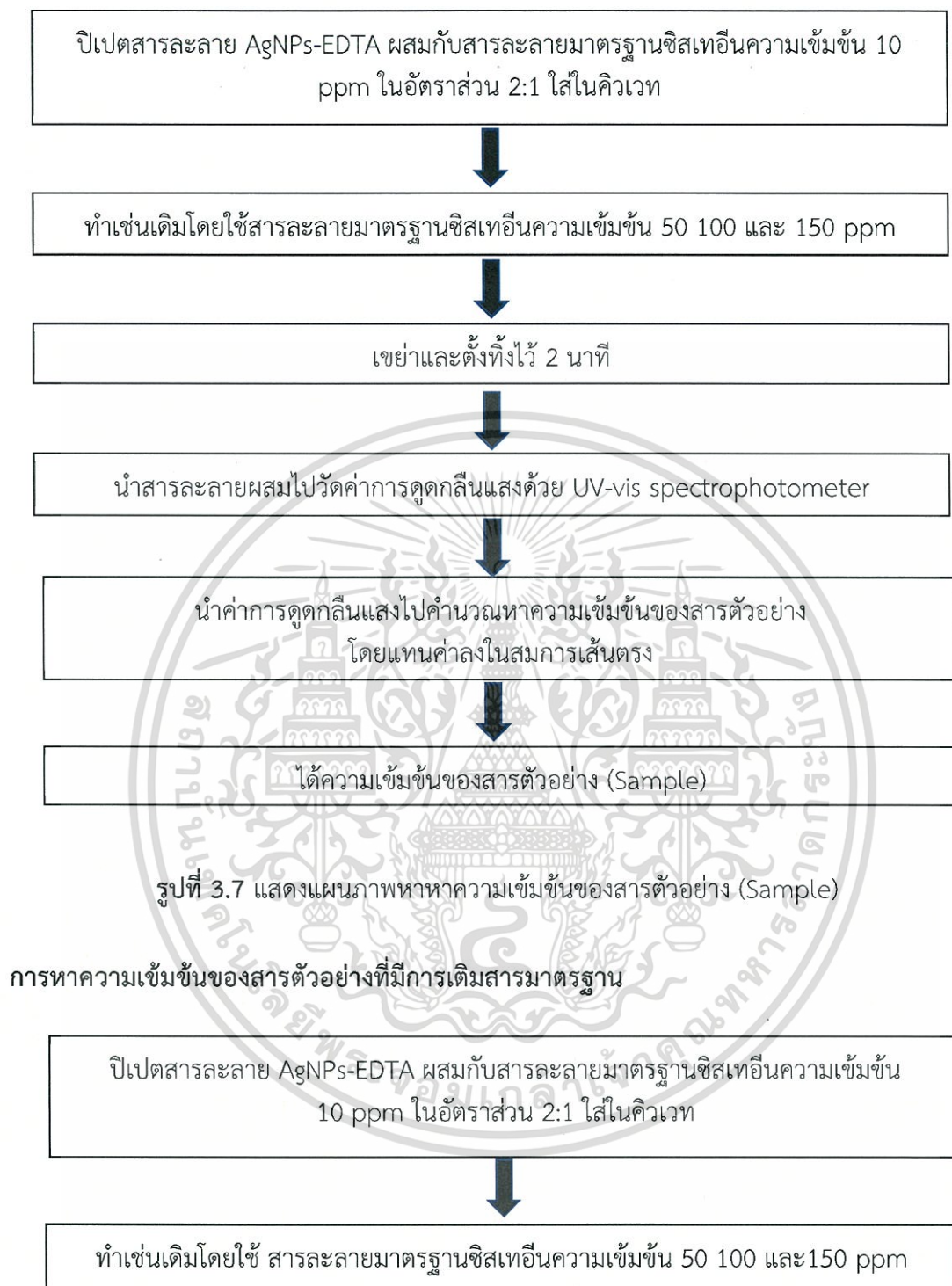


รูปที่ 3.6 แผนผังวิธีการศึกษาความเป็นเส้นตรงของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณซิสเทอีน

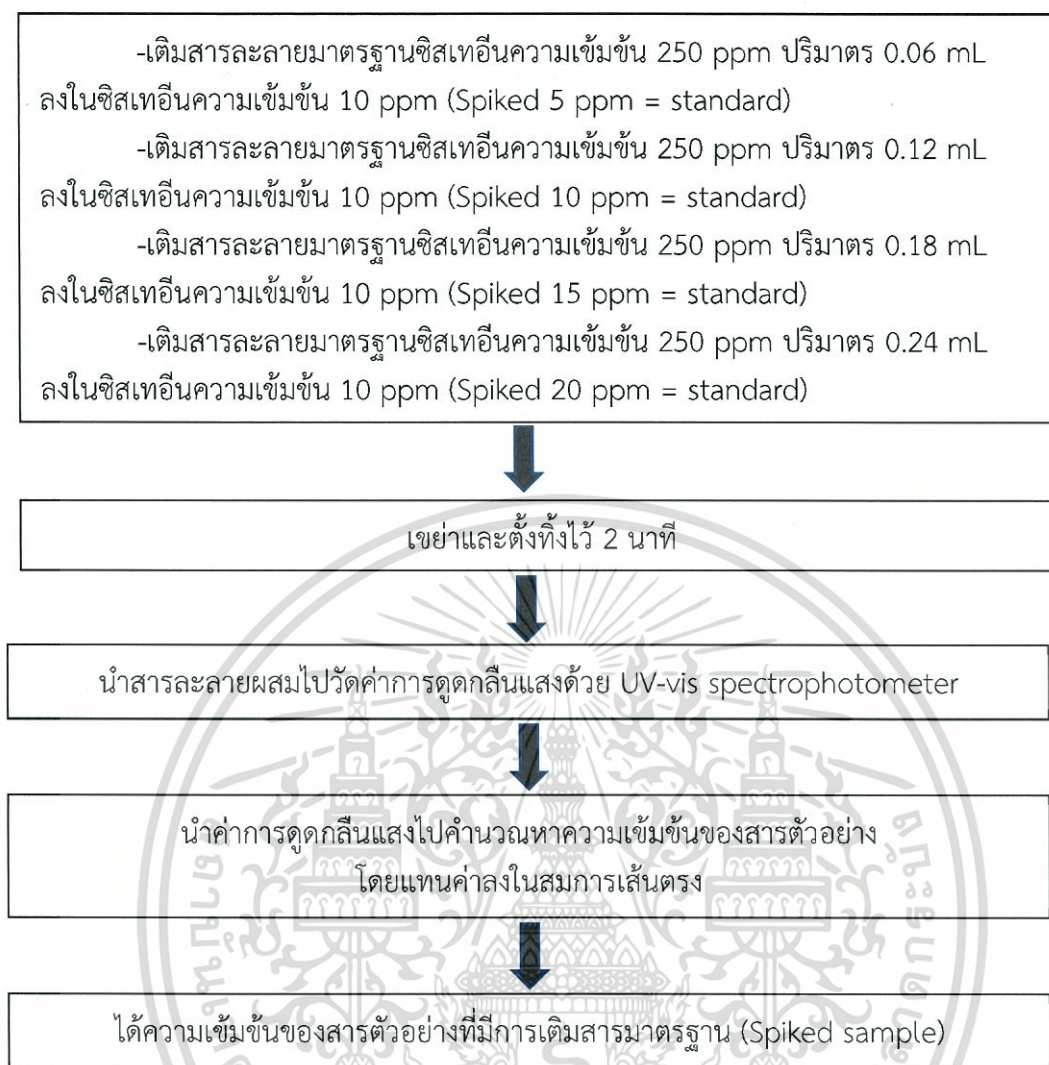
3.4.7 การศึกษาค่าคืนกลับของสารมาตรฐาน (%Recovery)

สารมาตรฐานซิสเทอีนที่เติมลงมีความเข้มข้นดังนี้ 5 10 15 และ 20 ppm ทำได้โดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานซิสเทอีนความเข้มข้น 10 50 100 150 และ 250 ppm ผสมกับสารละลาย AgNPs-EDTA ในอัตราส่วน 2:1 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย UV-vis spectrophotometer คำนวณหาความเข้มข้นโดยใช้สมการเส้นตรงจะได้ความเข้มข้นของตัวอย่าง (Sample) สามารถแสดงการทดลองดังรูปที่ 3.7 จากนั้นทำเช่นเดียวกับการหาความเข้มข้นเริ่มต้นแต่เติมสารมาตรฐานซิสเทอีน 5 10 15 และ 20 ppm ลงในสารละลายมาตรฐานซิสเทอีนความเข้มข้น 10 50 100 150 และ 250 ppm ตามลำดับนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย UV-vis spectrophotometer คำนวณหาความเข้มข้นโดยใช้สมการเส้นตรง จะได้ความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่มีการเติมสารมาตรฐาน (Spiked sample) สามารถแสดงการทดลองดังรูปที่ 3.8 นำความเข้มข้นที่ได้ไปคำนวณหา %Recovery

$$\text{โดย \%Recovery} = \frac{\text{Spiked sample} - \text{Sample}}{\text{Standard}} \times 100$$



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

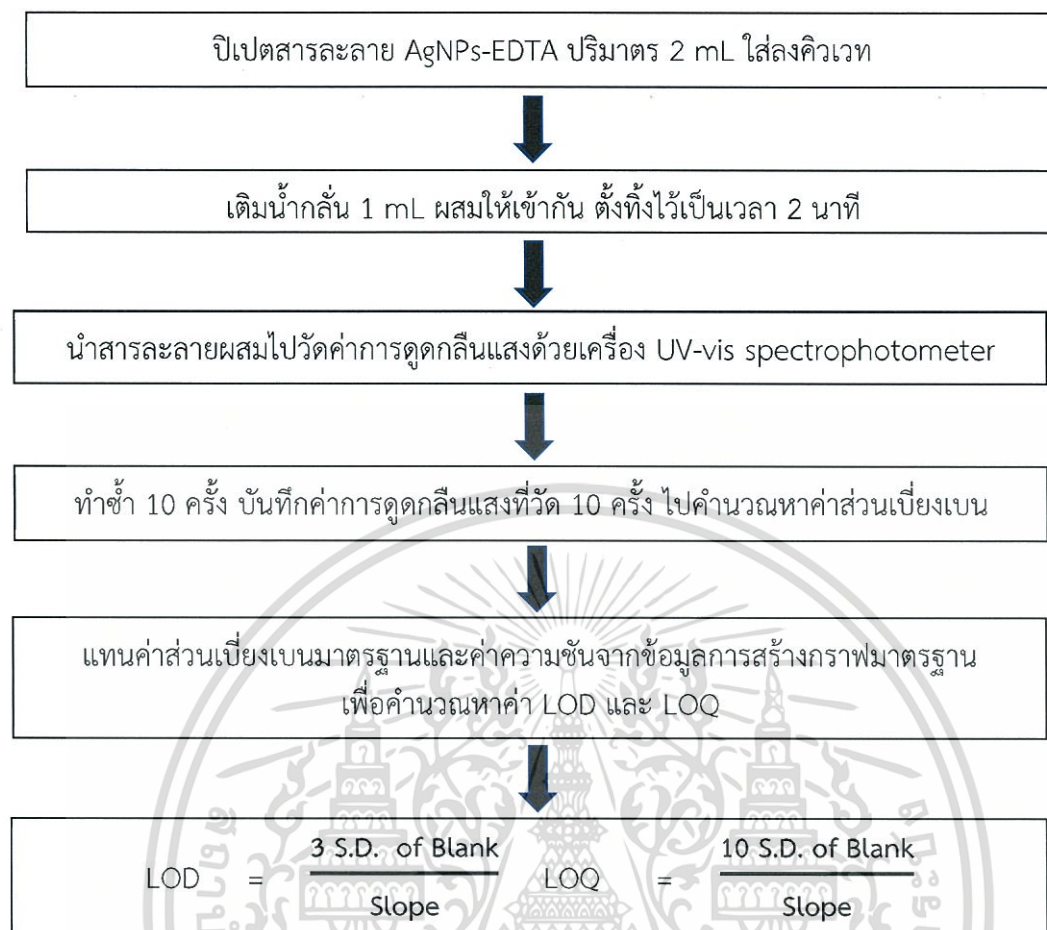


รูปที่ 3.8 แสดงการหาความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่มีการเติมสารมาตรฐาน (Spiked sample)

3.4.8 การศึกษาขีดจำกัดของการตรวจวัด (Limit of detection) และขีดจำกัดของกาววิเคราะห์ (Limit of quantitation)

การศึกษาขีดจำกัดของการตรวจวัด (Limit of detection) เป็นการศึกษาปริมาณที่ต่ำที่สุดของซีสเทอีนที่สามารถตรวจวัดได้ และขีดจำกัดการวิเคราะห์ (Limit of quantitation) เป็นการศึกษาปริมาณต่ำสุดของซีสเทอีนที่สามารถวิเคราะห์ได้ โดยอาศัยข้อมูลจากการสร้างกราฟมาตรฐาน ทำได้โดยนำสารละลาย AgNPs-EDTA ผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 2:1 mL เพื่อใช้เป็นสารละลาย Blank จากนั้นนำสารละลายผสมไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-vis spectrophotometer ทำซ้ำ 10 ครั้ง จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงไปคำนวณหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation; S.D.) และนำค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานมาคำนวณได้ค่าความชัน (Slope) จากข้อมูลการสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายซีสเทอีนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ไปคำนวณหาค่า LOD และ LOQ ต่อไป ซึ่งสามารถแสดงการทดลองดังรูปที่ 3.9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.9 แผนผังวิธีการหาขีดจำกัดการตรวจวัดและขีดจำกัดการวิเคราะห์

บทที่ 4

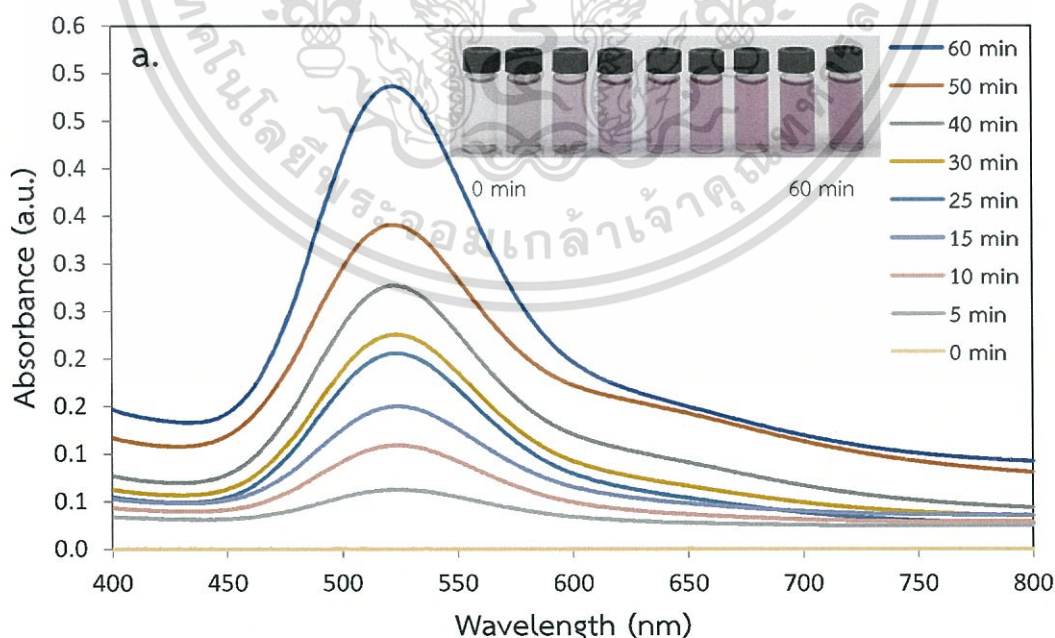
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

การสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโนโดยอาศัยปฏิกิริยารีดักชันทางแสง โดยใช้ PMA เป็นสารรีดิวซ์และ EDTA เป็นสารเพิ่มเสถียรภาพ เพื่อประยุกต์ใช้เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดเชิงสีของซีสเทอีน โดยงานวิจัยนี้สามารถแบ่งผลงานวิจัยและการอภิปรายผลการทดลองออกเป็น 3 ส่วนดังต่อไปนี้ ส่วนที่หนึ่งคือ การศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ PMA ที่เป็นสารรีดิวซ์และ EDTA ที่เป็นสารเพิ่มเสถียรภาพในขั้นตอนการสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโน ในส่วนที่สองคือ การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมที่ใช้ในการสังเคราะห์สารละลายอนุภาคเงินระดับนาโน และส่วนที่สามคือ การศึกษาตัวอย่างจำลองในการวิเคราะห์ซีสเทอีน

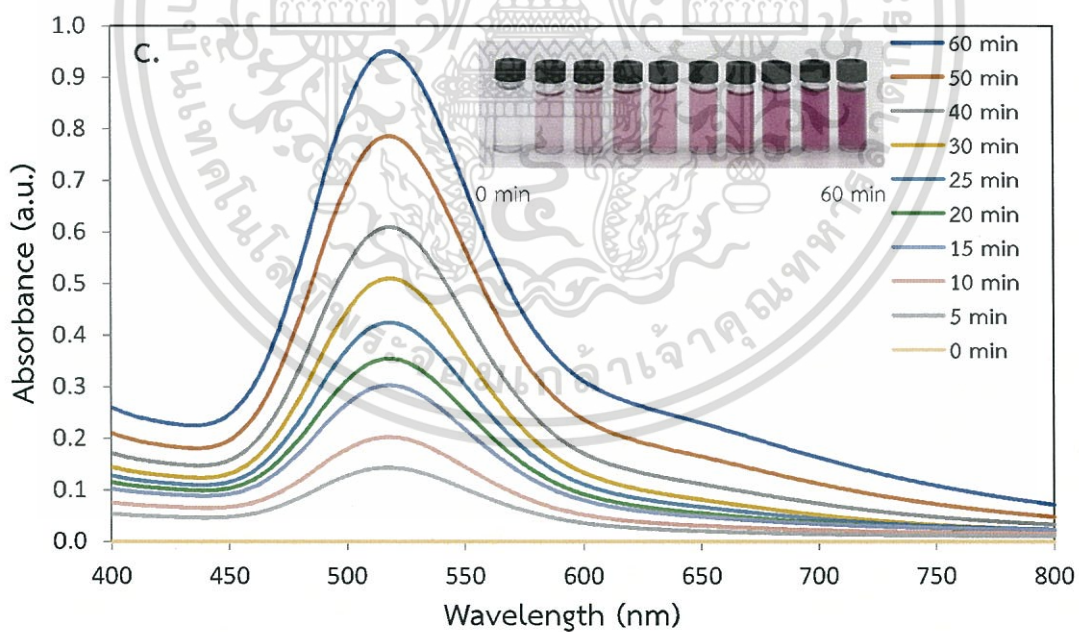
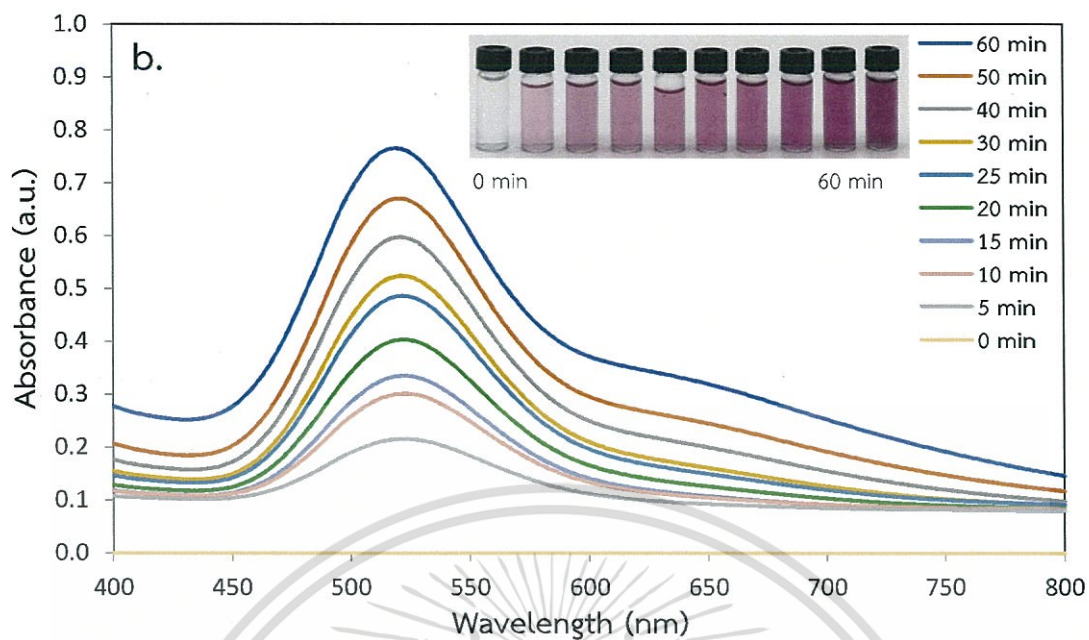
4.1 การสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโน

4.1.1 การศึกษาความเข้มข้นของสารรีดิวซ์พอลิเมทาคริลิกแอซิด (PMA)

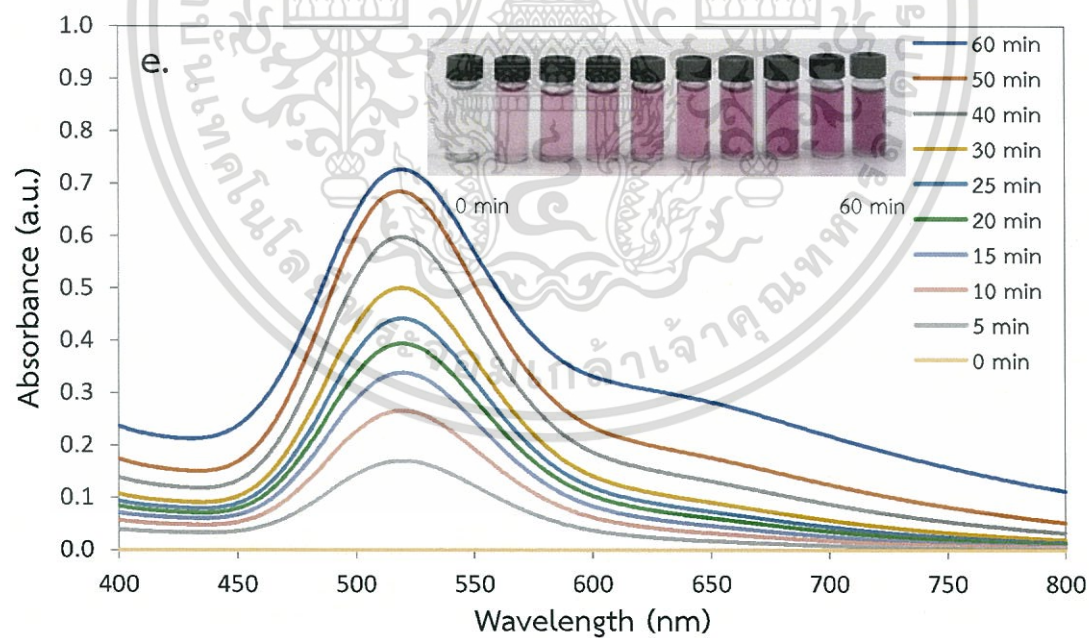
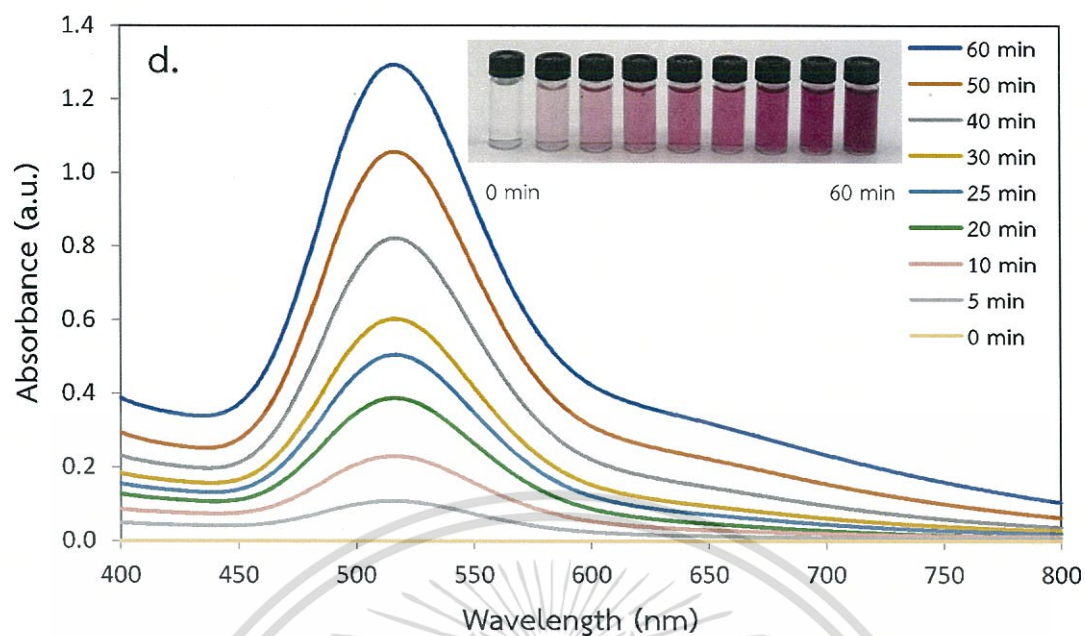
งานวิจัยนี้ได้ทำการสังเคราะห์สารละลายอนุภาคเงินระดับนาโน โดยมีสารละลาย PMA เป็นสารรีดิวซ์ที่ความเข้มข้น 5 10 15 20 25 และ 30 mM อีกทั้งยังใช้พลังงานแสงจากหลอดยูวีที่มีความยาวคลื่น 254 นาโนเมตรในการเกิดปฏิกิริยารีดักชันทางแสง จากปฏิกิริยาดังกล่าวส่งผลให้สารละลายเปลี่ยนเป็นสีม่วง แล้วนำสารละลายสีม่วงที่ได้ไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-vis spectrophotometer สแกนสเปกตรัมในช่วงความยาวคลื่น 200-800 นาโน ได้ผลดังต่อไปนี้



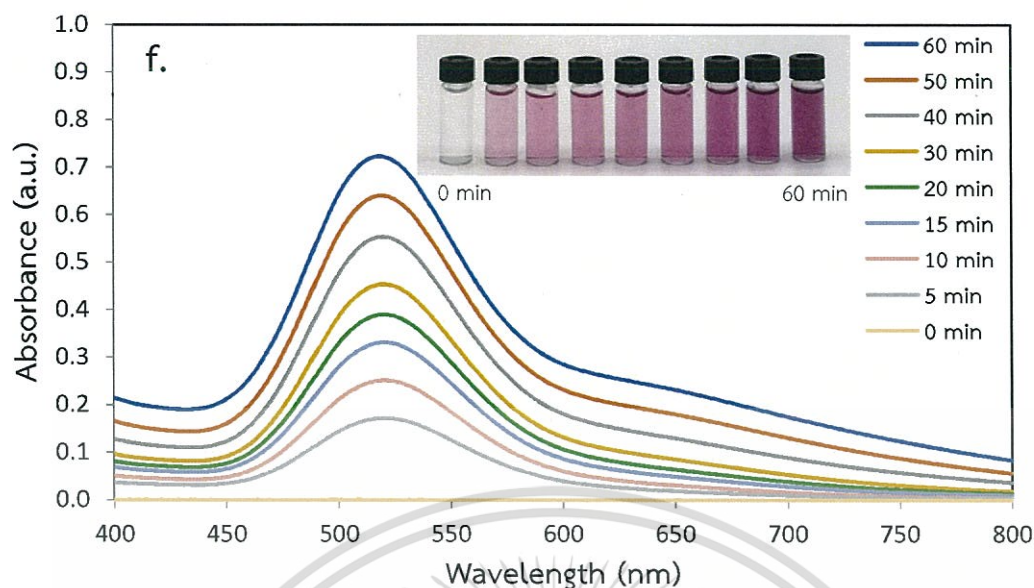
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



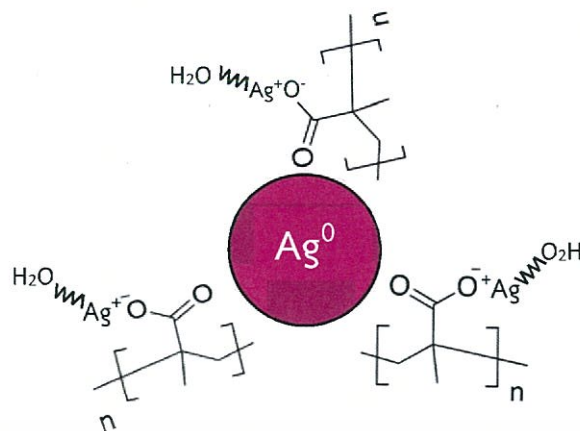
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงและสีของสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนที่มี PMA ความเข้มข้นต่าง ๆ (a) 5 mM (b) 10 mM (c) 15 mM (d) 20 mM (e) 25 mM (f) 30 mM

จากรูปที่ 4.1 สรุปผลจากการสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโนโดยใช้สารรักษาเสถียรภาพ PMA ศึกษาความเข้มข้นของ PMA ที่ 5 10 15 20 25 และ 30 mM โดยใช้เวลาในการสังเคราะห์ 60 นาที พบว่าที่ความเข้มข้น 5 mM มีค่าการดูดกลืนแสงคือ 0.3405 ความเข้มข้น 10 mM มีค่าการดูดกลืนแสงคือ 0.7655 ความเข้มข้น 15 mM มีค่าการดูดกลืนแสง 0.9807 ความเข้มข้น 20 mM มีค่าการดูดกลืนแสง 1.2931 ความเข้มข้น 25 mM มีค่าการดูดกลืนแสง 0.6844 และความเข้มข้น 30 mM มีค่าการดูดกลืนแสง 0.7229 ทุกความเข้มข้นให้สารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนที่มีสีม่วง ความเข้มข้นของสารรักษาเสถียรภาพ PMA เพิ่มขึ้น สีของสารละลายจะมีสีม่วงเข้มขึ้น จึงสรุปได้ว่าสีของสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนขึ้นกับความเข้มข้นของสารรักษาเสถียรภาพและระยะเวลาที่ให้พลังงานแสงจากหลอดยูวี ดังนั้นเลือกอนุภาคเงินระดับนาโนที่ใช้สารรักษาเสถียรภาพ PMA ความเข้มข้น 15 mM มีค่าดูดกลืนแสง 0.9507 เพราะที่ความเข้มข้น 15 mM ให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ดีที่สุด

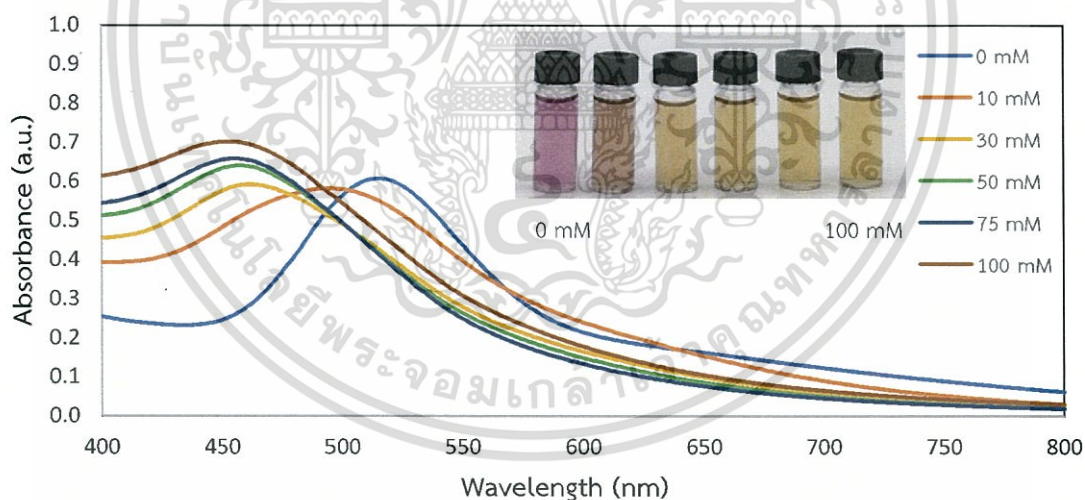
การสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโนโดยใช้สารละลายซิลเวอร์ไนเตรททำปฏิกิริยากับสารละลาย PMA เป็นตัวรีดิวซ์และสารรักษาเสถียรภาพ แล้วนำไปให้พลังงานแสงจากหลอดยูวีที่มีความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร จะได้สารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนสีม่วงที่มีโมเลกุลน้ำล้อมรอบอยู่ เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยารีดักชันทางแสงส่งผลทำให้ปฏิกิริยารีดักชันของซิลเวอร์ไอออนเกิดขึ้นอย่างไม่สมบูรณ์ ทำให้มีปริมาณของซิลเวอร์ไอออนเหลืออยู่ ซึ่งซิลเวอร์ไอออนที่เหลืออยู่จะเข้าทำปฏิกิริยากับอนุภาคเงินระดับนาโน เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนในรูปของ Ag^0/COO^- โดยสารประกอบเชิงซ้อนชนิดนี้จะเหนี่ยวนำให้อนุภาคที่อยู่รอบ ๆ เกิดการผลัดออกจากโครงสร้าง จึงทำให้สารประกอบเชิงซ้อน Ag^0/COO^- มีความชอบน้ำลดน้อยลง ซึ่งสามารถอธิบายได้ดังรูปที่ 4.2



รูปที่ 4.2 แสดงกลไกการเกิดอนุภาคเงินในระดับนาโน

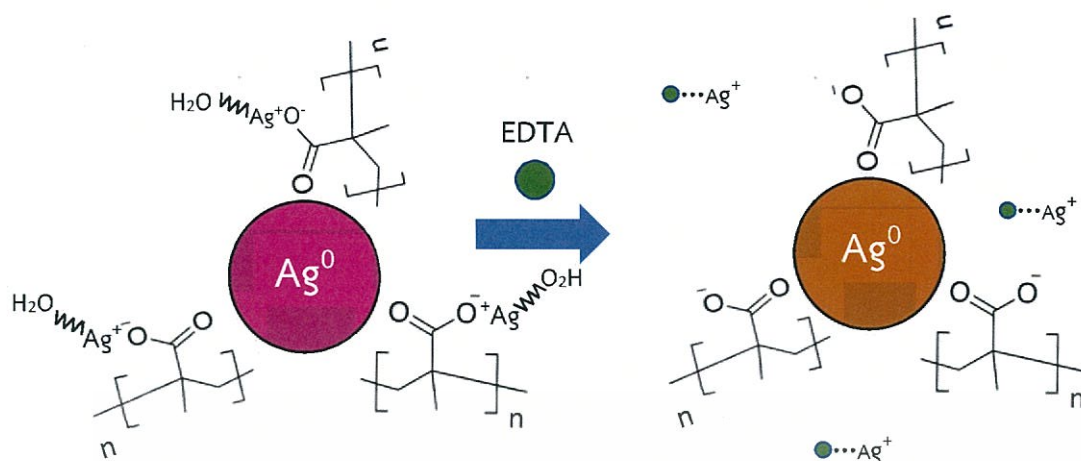
4.1.2 การศึกษาความเข้มข้นของสารละลายเอทิลีนไดเอมีนเตตระอะเซติก (EDTA)

การศึกษาเพื่อหาความเข้มข้นของ EDTA ที่เหมาะสม ในการทำปฏิกิริยากับสารละลาย AgNPs โดยทำการผสมกับสารละลาย EDTA ในอัตราส่วน 1:1 ซึ่งความเข้มข้นของสารละลาย EDTA ที่ได้ทำการศึกษา คือ 10 30 50 75 และ 100 mM เมื่อตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 2 นาทีจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-vis spectrophotometer



รูปที่ 4.3 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงและสีของสารละลายเมื่อทำการผสม AgNPs และ EDTA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

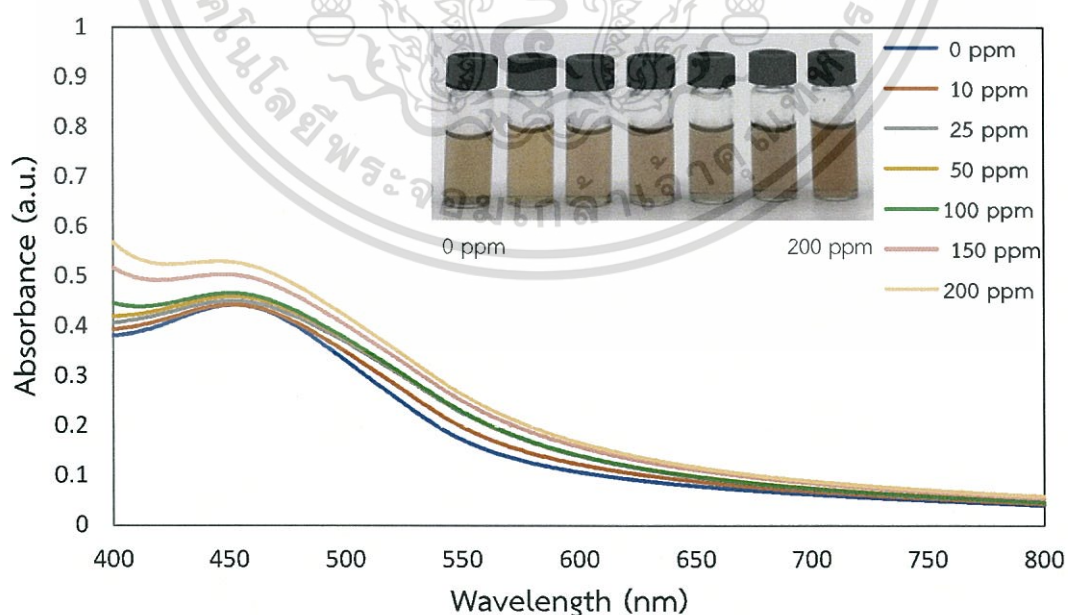
จากการได้ศึกษาหาความเข้มข้นของ EDTA ที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยา พบว่าสีของสารละลายจะเกิดการเปลี่ยนแปลงจากสีม่วงกลายเป็นสีน้ำตาลอ่อน ที่ความเข้มข้น 0 ถึง 50 mM ความยาวคลื่นยังเกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างไม่คงที่ แต่ที่ความเข้มข้น 75 และ 100 mM จะพบว่าค่าของความยาวคลื่นเกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างคงที่ อีกทั้งให้ค่าความยาวคลื่นที่เท่ากัน ดังนั้น เราจึงเลือกใช้ความเข้มข้นของ EDTA ที่ 75 mM กลไกการเกิดปฏิกิริยาจะแสดงดังรูปที่ 4.4 ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารละลาย AgNPs กับ EDTA

4.1.3 การศึกษาความสามารถในการรับรู้ของสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนในการตรวจวัดซิสเทอีน

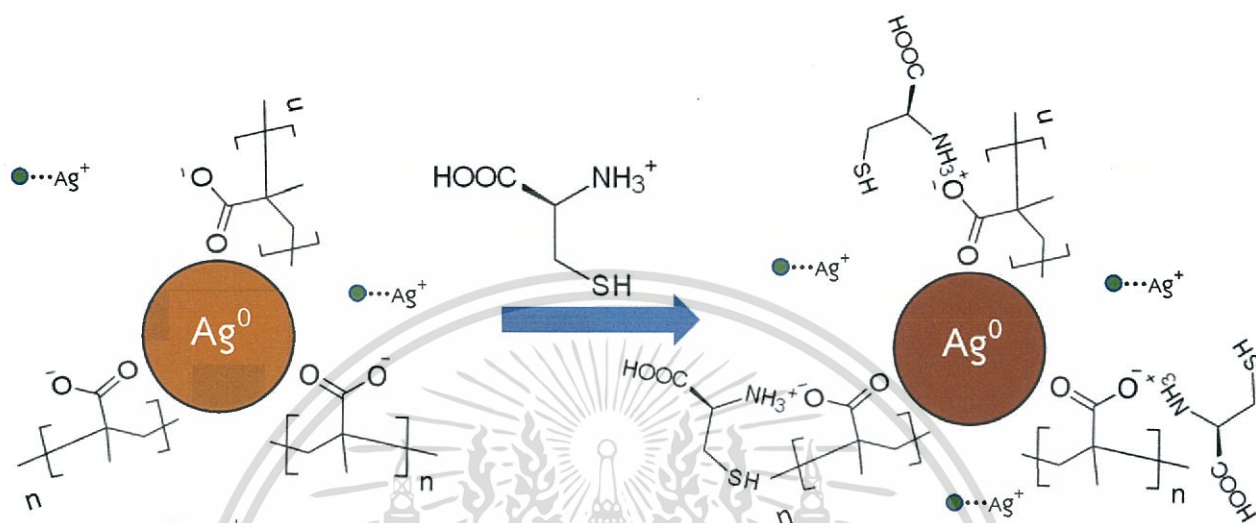
การศึกษาความสามารถในการรับรู้ของสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนในการตรวจวัดซิสเทอีน โดยนำสารละลาย AgNPs ที่มี EDTA (AgNPs-EDTA) มาผสมกับซิสเทอีน ในอัตราส่วน 2:1 ซึ่งความเข้มข้นของสารละลายซิสเทอีนที่ได้ทำการศึกษา คือ 10 25 50 75 100 125 150 175 และ 200 ppm เมื่อตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 2 นาทีจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-vis spectrophotometer



รูปที่ 4.5 แสดงสเปกตรัมและสีของสารละลายหลังจาก AgNPs-EDTA ผสมกับซิสเทอีนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.5 หลังจากได้ผสม AgNPs-EDTA และซิสเทอีนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ จะเห็นได้ว่าสีของสารละลายจะเกิดการเปลี่ยนแปลงจากสีน้ำตาลอ่อนเป็นสีน้ำตาลเข้ม และมีสีที่เข้มขึ้นดูจากการดูดกลืนแสงที่มากขึ้น เมื่อความเข้มข้นของซิสเทอีนเพิ่มขึ้น ซึ่งมีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน โดยจะเกิดกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังรูปที่ 4.6

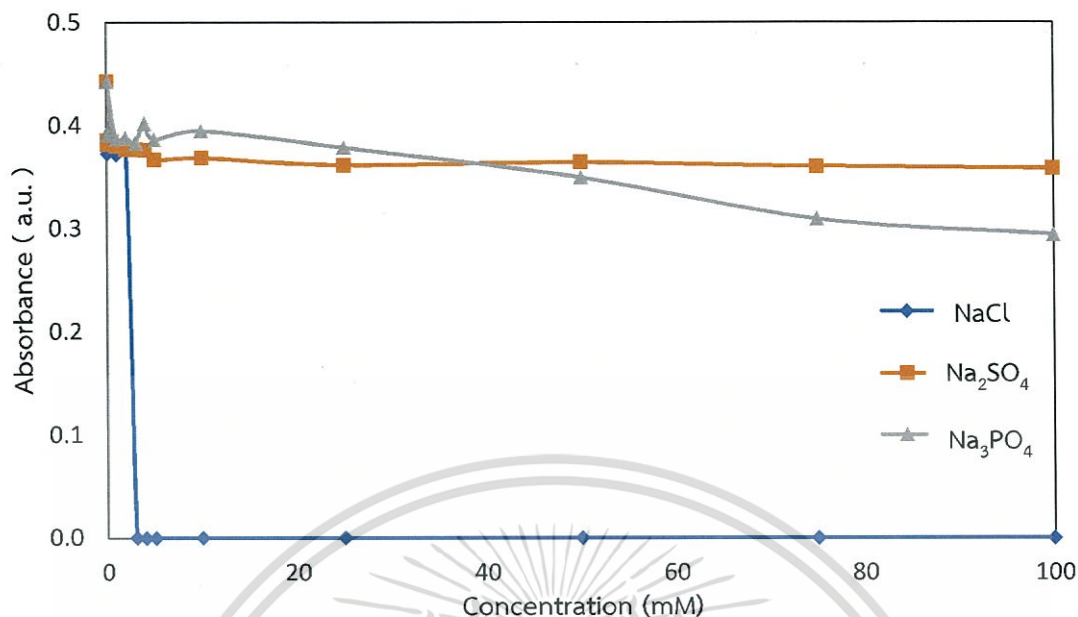


รูปที่ 4.6 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารละลาย AgNPs-EDTA กับซิสเทอีน

4.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการวิเคราะห์ของอนุภาคเงินระดับนาโน

4.2.1 ศึกษาความเสถียรของสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนในสถานะที่มีเกลือ

เนื่องจากสารละลาย AgNPs-EDTA ไม่เสถียรต่อสถานะที่มีเกลือ จึงได้ทำการทดลองกับ NaCl, Na₂SO₄, Na₃PO₄ เพื่อศึกษาว่าสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนที่มีสารเสถียรภาพ (AgNPs-EDTA) มีความเสถียรต่อเกลือชนิดใดมากที่สุด โดยในการทดลองจะผสม AgNPs-EDTA กับ NaCl, Na₂SO₄, Na₃PO₄ ที่ความเข้มข้น 0.001 0.01 0.1 0.5 1 2 3 4 5 10 25 50 75 และ 100 mM ในอัตราส่วน 1:1 ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-vis spectrophotometer

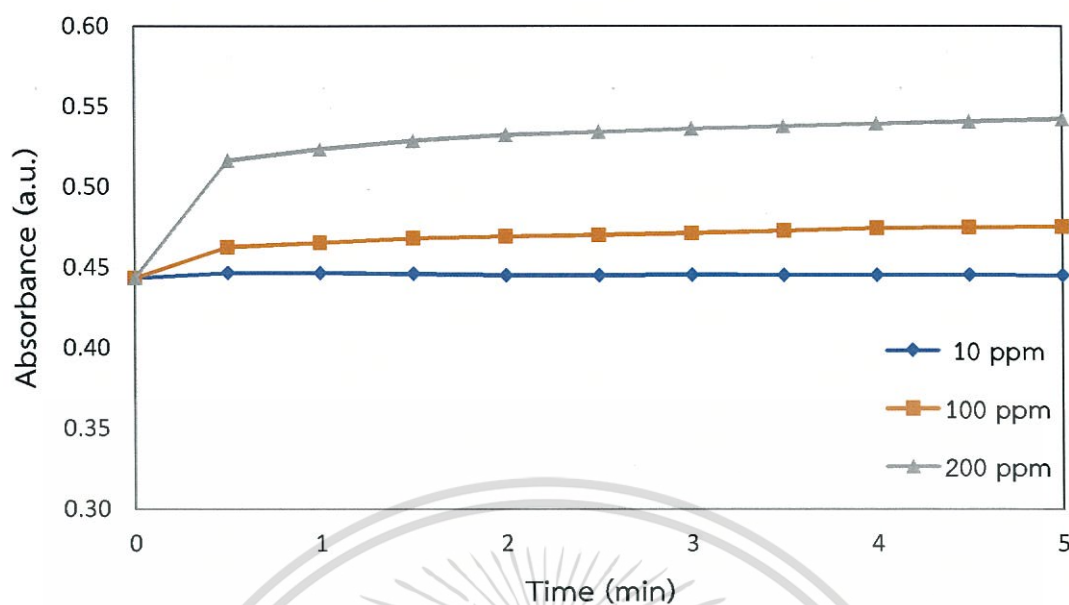


รูปที่ 4.7 แสดงความเสถียรของสารละลาย AgNPs-EDTA ที่มีต่อเกลือ

จากรูปที่ 4.7 สารละลาย AgNPs-EDTA ไม่เสถียรต่อ NaCl โดยความเข้มข้นที่สูงที่สุดที่ทำให้สารละลาย AgNPs-EDTA ตกตะกอนคือ 3 mM เนื่องจากสารละลาย AgNPs-EDTA ทำปฏิกิริยากับ NaCl ภายในอนุภาคจะมีแรงผลักรันระหว่างประจุของหมู่คาร์บอกซิลบน PMA ผลักรันอยู่เมื่อเติมเกลือ NaCl ลงไปจะช่วยลดแรงผลักรันระหว่างประจุของหมู่คาร์บอกซิลบน PMA ได้ แต่ถ้าหากใช้ปริมาณของเกลือ NaCl มากเกินไป แรงผลักรันระหว่างประจุของหมู่คาร์บอกซิลบน PMA กับ NaCl จะมีมากกว่าแรงผลักรันระหว่างประจุของหมู่คาร์บอกซิลบน PMA ด้วยกันเอง ดังนั้นจึงเกิดการตกตะกอนของสารละลาย [40] ในขณะที่สารละลาย AgNPs-EDTA เสถียรต่อ Na₂SO₄ และ Na₃PO₄ ที่ความเข้มข้นมากถึง 100 mM

4.2.2 การศึกษาผลของเวลาในการทำปฏิกิริยาของสารละลายอนุภาคเงินในระดับนาโน

วิธีการศึกษาผลของเวลาทำได้โดยนำสารละลาย AgNPs-EDTA แล้วเติมสารละลายมาตรฐานซิสเทอีนที่ความเข้มข้น 10 100 และ 200 ppm ในอัตราส่วน 2:1 แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-vis spectrophotometer ทุก ๆ 30 วินาที เป็นเวลา 5 นาที ผลที่ได้ดังรูปที่ 4.8



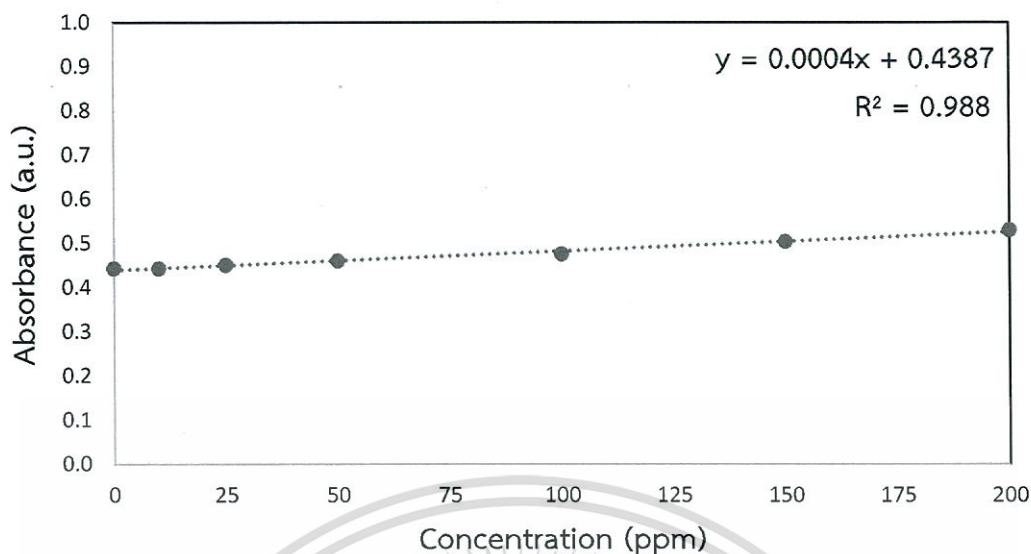
รูปที่ 4.8 แสดงผลของเวลาที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

จากรูปที่ 4.8 เมื่อได้ทำการศึกษาเวลาในการเกิดปฏิกิริยาของสารละลายอนุภาคเงินในระดับนาโนกับซีสเทอีน โดยในการทดลองจะทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงทุก ๆ 30 วินาทีเป็นเวลา 5 นาที ความเข้มข้นของซีสเทอีนที่ใช้คือ 10 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าที่ซีสเทอีนความเข้มข้นสูง ค่าการดูดกลืนแสงจะเริ่มคงที่เร็วกว่านาที่ที่ 2 แต่ที่ซีสเทอีนความเข้มข้นต่ำ ค่าการดูดกลืนแสงจะเริ่มคงที่หลังจากนาที่ที่ 2 เป็นต้นไป จึงสามารถสรุปโดยภาพรวมได้ว่า เวลาที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารละลายอนุภาคเงินในระดับนาโนกับซีสเทอีนคือ 2 นาที

4.3 การศึกษาคุณลักษณะของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณซีสเทอีนด้วยสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโน

4.3.1 การศึกษาความเป็นเส้นตรง (Linearity)

การศึกษาความเป็นเส้นตรงของวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณซีสเทอีน ทำได้โดยนำสารละลาย AgNPs-EDTA และเติมสารละลายมาตรฐานซีสเทอีนที่ความเข้มข้น 10 25 50 100 150 และ 200 ppm มาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-vis spectrophotometer สแกนสเปกตรัมในช่วงความยาวคลื่น 200-800 นาโนเมตร แล้วนำมาสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานซีสเทอีนกับค่าการดูดกลืนแสง ผลที่ได้ดังรูปที่ 4.9



รูปที่ 4.9 แสดงกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานซิสเทอีน

จากรูปที่ 4.9 พบว่า มีความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 10-200 ppm สมการถดถอยเชิงเส้นคือ $y = 0.0004x + 0.4387$ และมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.988 ซึ่งถือเป็นค่าที่ยอมรับได้

4.3.2 การศึกษาหาค่าร้อยละการคืนกลับของสารมาตรฐาน (%Recovery) และค่าความเที่ยง (Precision)

วิธีการศึกษาหาค่าร้อยละการคืนกลับด้วยสารละลาย AgNPs-EDTA โดยเติมสารละลายมาตรฐานซิสเทอีนที่มีความเข้มข้น 5 10 15 และ 20 ppm แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง 3 ครั้ง นำผลที่ได้คำนวณหาค่าร้อยละการคืนกลับจากสูตร

$$\% \text{Recovery} = \frac{\text{Spiked sample} - \text{Sample}}{\text{Standard}} \times 100$$

$$\% \text{RSD} = \frac{\text{S.D.}}{\bar{x}} \times 100$$

ผลที่ได้แสดงดังตารางที่ 4.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ตารางแสดงผลที่ได้คำนวณค่าร้อยละการคืนกลับของสารละลายมาตรฐานและค่าความเที่ยง

ความเข้มข้นของซิสเทอีนที่เติม (ppm)	Accuracy (%Recovery)	Precision (%RSD)
0	-	-
5	100	7.47
10	105	1.27
15	100.556	0.45
20	102.9165	0.96

จากตารางที่ 4.1 แสดงให้เห็นว่าค่าร้อยละการคืนกลับ (%Recovery) อยู่ในช่วง 100-105% และมีค่าความแม่นยำเท่ากับ 0.45-7.47 ซึ่งถือว่าอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

4.3.3 การศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of detection) และขีดจำกัดของการวิเคราะห์ (Limit of quantitation)

วิธีการศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) และขีดจำกัดของการวิเคราะห์ (LOQ) โดยการเตรียมสารละลาย Blank นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง 10 ครั้ง แล้วหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยอาศัยข้อมูลจากกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานซิสเทอีนและค่าการดูดกลืนแสงจากนั้นทำการคำนวณโดยใช้สูตร

$$\text{LOD} = \frac{3 \text{ S.D. of Blank}}{\text{Slope}}$$

และ

$$\text{LOQ} = \frac{10 \text{ S.D. of Blank}}{\text{Slope}}$$

ผลจากการคำนวณพบว่าวิธีนี้มีขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจพบซิสเทอีนเท่ากับ 4.065 ppm และขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณเท่ากับ 13.55 ppm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโนโดยมีพอลิเมทาคริลิกแอซิด โซเดียมซอลต์ (PMA) เป็นสารรักษาเสถียรภาพ และ เอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิด (EDTA) เป็นสารเพิ่มเสถียรภาพ โดยใช้ปฏิกิริยารีดักชันทางแสงระหว่างซิลเวอร์ไนเตรท สารละลาย PMA และ สารละลาย EDTA ในการตรวจวัดหาปริมาณซีสเทินด้วยวิธีการสังเกตการเปลี่ยนแปลงสี (Colorimetric) ร่วมกับเทคนิคยูวี-วิซิเบิลสเปกโตรโฟโตเมทรี

ในการทดลองได้ทำการสรุปผลดังต่อไปนี้ การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์อนุภาคเงินในระดับนาโน ได้แก่ ความเข้มข้นที่เหมาะสมของพอลิเมทาคริลิกแอซิด โซเดียมซอลต์ (PMA) และระยะเวลาที่เหมาะสมในการสังเคราะห์ พบว่า เมื่อใช้ PMA ที่ความเข้มข้น 15 มิลลิโมลาร์ และใช้เวลาในการให้พลังงานแสงจากหลอดยูวีนาน 60 นาที จะได้สารละลายสีม่วง ได้ค่าการดูดกลืนแสงที่ 516 นาโนเมตร ในการศึกษาความเข้มข้นของ EDTA ที่ความเข้มข้น 75 มิลลิโมลาร์ จะได้สารละลายสีน้ำตาลอ่อน ผลของเวลาในการทำปฏิกิริยาของสารละลายอนุภาคเงินในระดับนาโนกับซีสเทิน โดยเวลาที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาคือ 2 นาที สารละลายเกิดการเปลี่ยนแปลงจากสีน้ำตาลอ่อนเป็นสีน้ำตาลเข้ม การศึกษาความเสถียรของเกลือพบว่า สารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนจะเสถียรต่อ Na_2SO_4 และ Na_3PO_4 แต่จะไม่เสถียรต่อ NaCl เพราะเกิดการตกตะกอน และในการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของวิธีวิเคราะห์จากกราฟมาตรฐานที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของสารละลายซีสเทินกับค่าดูดกลืนแสง สมการที่ได้คือ $y = 0.0004x + 0.4387$ ซึ่งมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.988 ช่วงของความเป็นเส้นตรงคือ 10-200 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขีดต่ำสุดของการตรวจวัดและขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เท่ากับ 4.065 ppm และ 13.55 ppm ตามลำดับ

5.2 ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากสารละลายอนุภาคเงินในระดับนาโนที่สังเคราะห์ขึ้นได้มีแรงดึงดูดทางประจุไฟฟ้ากับประจุบวกบนหมู่อะมิโน ดังนั้นจึงไม่จำเพาะเจาะจงกับซีสเทิน เพราะสามารถเกิดแรงดึงดูดทางประจุไฟฟ้ากับกรดอะมิโนได้หลายชนิด ดังนั้นจึงควรศึกษาตัวรบกวนที่มีผลต่อการวิเคราะห์ซีสเทิน

เอกสารอ้างอิง

- [1] Cysteine. [Online]. Available : www.greenclinic.in.th/cystine.html.
เข้าถึงเมื่อ 18 มีนาคม 2561
- [2] K. Michelle. 2553. **What is cysteine.** [Online]. Available :
<https://www.livestrong.com/article/256383-what-is-cysteine>.
เข้าถึงเมื่อ 18 มีนาคม 2561
- [3] **High Performance Liquid Chromatography (HPLC) 2.** [Online]. Available :
<http://www.chemtech.sc.chula.ac.th/ct/high-performance-liquid-chromatography-hplc-2/>. เข้าถึงเมื่อ 3 มิถุนายน 2561
- [4] E. Bald, E. Kaniowska, G. Chwatko and R. Glowacki. 2000. “Liquid chromatographic assessment of total and protein-bound homocysteine in human plasma.” *Talanta*. (50) : 1233–1243.
- [5] เครื่องคะพิลลารีอิเล็กโทรโฟรีซิส (Capillary Electrophoresis, CE). [Online]. Available :
<http://www.ubu.ac.th/web/content.php?content=4800001997>.
เข้าถึงเมื่อ 3 มิถุนายน 2561
- [6] เครื่องวิเคราะห์และแยกสารด้วยหลักการแคปิลลารี อิเล็กโทรโฟรีซิส. [Online]. Available :
http://stdb.most.go.th/equipment_detail.aspx?id=98. เข้าถึงเมื่อ 3 มิถุนายน 2561
- [7] เครื่องวิเคราะห์และแยกสารด้วยหลักการแคปิลลารี อิเล็กโทรโฟรีซิส. [Online]. Available :
<http://www.med.cmu.ac.th/research/equip/CE.html>. เข้าถึงเมื่อ 3 มิถุนายน 2561
- [8] Alexander Vladimirovich Ivanov, Edward Danielevich Virus, Boris Petrovich Luzyanin and Aslan Amirkhanovich Kubatiev. 2015. “Capillary electrophoresis coupled with 1,1-thiocarbonyldiimidazole derivatization for the rapid detection of total homocysteine and cysteine in human plasma.” *Journal of Chromatography B*. (1004) : 30–36.
- [9] Gas Chromatography. [Online]. Available :
<http://www.env.eng.chula.ac.th/?q=content/gas-chromatography-gc>.
เข้าถึงเมื่อ 3 มิถุนายน 2561
- [10] Seung-Woon Myunga, Myungsoo Kima, Hye-Ki Minb, Eun-Ah Yoob and Kyoung-Rae Kimc. 1999. “Determination of homocysteine and its related compounds by solidphase microextraction–gas chromatography–mass spectrometry.” *Journal of Chromatography B*. (727) : 1–8.
- [11] N. Chen. 2018. “A colorimetric sensor based on citrate stabilized AuNPs for rapid pesticide residue detection of terbuthylazine and dimethoate.” *Sensors and Actuators B*. (255) : 3093-3101.
- [12] Surface plasmon resonance. [Online]. Available :
https://nanome15.blogspot.com/2010/02/blog-post_9247.html

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- [13] C. Kanokwan, T. Thawatchai and N. Wittaya. 2015. “A highly selective colorimetric sensor for ferrous ion based on polymethylacrylic acid-templated silver nanoclusters.” *Sensors and Actuators B.* (207) : 658–667.
- [14] อนุภาคนาโนเงิน. 2560. [Online]. Available :
<http://th.chinananomaterial.com/info/silver-nanoparticle-14070368.html>.
 เข้าถึงเมื่อ 20 มีนาคม 2561
- [15] ซิลเวอร์นาโนและประโยชน์ซิลเวอร์นาโน. [Online]. Available :
<http://www.siamchemi.com/ซิลเวอร์นาโน>. เข้าถึงเมื่อ 20 มีนาคม 2561
- [16] Z. Anna, S. Ewa, Z. Adriana, G. Maria and H. Jan. 2009. “Preparation of silver nanoparticles with controlled particle size.” *Procedia Chemistry* 1. 1560–1566.
- [17] K. Kanpimol. 2017. “Plant Extract Synthesized Silver Nanoparticles and their Antimicrobial Activity.” *KKU Sci. J.* 45. (1) : 34-52.
- [18] K. Mebrahtu Hagos, R. Dharmasoth, Y. Pavan Kumara, B. Sathish Mohana, T. Aschalew, B. Gangarao and K. Basavaiah. 2018. “Synthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of Dolichos lablab for reduction of 4-Nitrophenol, antimicrobial and anticancer activities.” *OpenNano* (3) 28–37.
- [19] K. Aniline Zaheer, A. Shaeel Ahmed, O. Abdullah Yousif and A.O. Al-Youbi. 2011. “Preparation and characterization of silver nanoparticles by chemical reduction method.” *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* (82) 513–517.
- [20] K. Bahareh, G. Hamid Reza. 2015. “Synthesis of silver nanoparticles with different shapes.” *Arabian Journal of Chemistry*.
- [21] Laser ablation method. 2561 [Online]. Available :
https://www.researchgate.net/publication/293637284_A_Review_on_Preparation_and_Applications_of_Silver-Containing_Nanofibers เข้าถึงเมื่อ 20 มีนาคม 2561
- [22] K. Nikša, S. Krešimir, B. Ognjen, K. Janez, D. Jasna, U. Polona and C. Ivana. 2018. “Parameters optimization for synthesis of Al-doped ZnO nanoparticles by laser ablation in water.” *Applied Surface Science.* (440) : 916–925.
- [23] P. Apiwat, T. Kheamrutai and N. Noppadon. 2016. “Green synthesis of colloidal silver nanoparticles for Surface-enhanced Raman scattering.” *Phranakhon Rajabhat Research Journal (Science and Technology)*.
- [24] M. Yavuz, Y. Cheng, J. Chen, C. Cobley, Q. Zhang, M. Rycenga, J. Xie, C. Kim, K. Song, A. Schwartz, L. Wang and Y. Xia. 2009. “Gold nanocages covered by smart polymers for controlled release with near-infrared light.” *Nat Mater.* (12) : 935-9.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- [25] T.Takeshi, O. Yuuki and T.Masaharu. 2008. "Preparation of silver nanoparticles by laser ablation in polyvinylpyrrolidone solution." *Applied Surface Science* 254(16) : 5224-5230
- [26] Priscila R.Teixeira. 2016. "Photochemically-assisted synthesis of non-toxic and biocompatible gold nanoparticles." *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. (148) : 317–323.
- [27] Jinlan Yang, Naizhong Song, Xueju Lv, Qiong Jia. 2018. "UV-light-induced synthesis of PEI-CuNCs based on Cu²⁺-quenched fluorescence turn-on assay for sensitive detection of biothiols, acetylcholinesterase activity and inhibitor" *Sensors and Actuators B*. (259) : 236–232.
- [28] Khan Behlol Ayaz Ahmed, Rajendran Senthilnathan, Sengan Megarajan, Veerappan Anbazhagan. 2015 "Sunlight mediated synthesis of silver nanoparticles using redox phytoprotein and their application in catalysis and colorimetric mercury sensing" *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 151 (2015) 39-45
- [29] Galhenage A. Sewwandi, Keiji Matosaki, Cahngdong Chen, Takafumi Kusunose, Yasuhiro Tanaka, Shunsuke Nakanishi, Qi Feng "Improved dispersion ability of TiO₂ nanoparticles for efficient dye-sensitized solar cells" *Applied Surface Science* 357 (2015) 1658-1665
- [30] L. Wiphawee, D. Wijitar, S. Weena, N. Nattaya and C. Orawon. 2011. "Selective determination of homocysteine levels in human plasma using a silver nanoparticle-based colorimetric assay." *Talanta*. (85) : 870– 876.
- [31] S. Zuguang, H. Guocheng, L. Chuanfu, W. Xiaoying and S. Runcang. 2016. "Green synthesis of silver nanoparticles with bagasse for colorimetric detection of cysteine in serum samples." *Journal of Alloys and Compounds*. (686) : 82-89.
- [32] W. Tong, L. Yuan Fang and H. Cheng Zhi. 2009. "Selectively colorimetric detection of cysteine with triangular silver nanoprisms." *Chinese Chemical Letters* (20) : 611–614.
- [33] W. Xiaoyi, Q. Li, T. Junjun, L. Ruigang and W. Fuyi. 2010. "A colorimetric sensor for determination of cysteine by carboxymethyl cellulose-functionalized gold nanoparticles." *Analytica Chimica Acta*. (671) : 80–84.
- [34] W. Liang-Liang, W. Li-Ying, X. Zheng-Jun, P. Na and P. Chi-Fang. 2016. "Colorimetric assay of L-cysteine based on peroxidase-mimicking DNA-Ag/Pt nanoclusters." *Sensors and Actuators B*. (235) : 110–116.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- [35] X. Zhonghua, F. Xiaoxia, R. Honghong, I. Mohammed Hassan, X. Lulu, L. Xiuhui and L. Xiaoquan. 2017. “colorimetric indicator-displacement assay for cysteine sensing based on a molecule-exchange mechanism.” *Talanta*. (174) : 667–672.
- [36] W. Yi-Wei, T. Shurong, Y. Huang-Hao and S. Hongbo. 2016. “A novel colorimetric assay for rapid detection of cysteine and Hg^{2+} based on gold clusters.” *Talanta*. (146) : 71–74.
- [37] Z. Yan, J. Jingjing, L. Min, G. Pengfei, Z. Ying, Z. Guomei, S. Shaomin and D. Chuan. 2016. “Colorimetric sensor for cysteine in human urine based on novel gold nanoparticles.” *Talanta*. (161) : 520–527.
- [38] C. Shuang, G. Huiling, S. Weiwei, L. Chao and Y. Qipeng. 2014. “Colorimetric detection of cysteine using non-crosslinking aggregation of fluorosurfactant-capped silver nanoparticles.” *Sensors and Actuators B*. (190) : 673–678.
- [39] F. Khalil, F. Mehrdad, P. Atefeh and M. Rahim. 2014. “Highly sensitive and selective colorimetric probe for determination of l-cysteine in aqueous media based on Ag/Pd bimetallic nanoparticles.” *Sensors and Actuators B*. (202) : 993–1001.
- [40] เอกรัฐ เดชศรี. 2017. *Introduction of Nanotechnology*. หน้าที่ 13-15. กรุงเทพมหานคร. คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารละลาย

1. การเตรียมสารละลายในการสังเคราะห์อนุภาคเงินในระดับนาโนด้วยวิธีเคมีสีเขียว โดยมีแสงอัลตราไวโอเล็ตเป็นแหล่งให้พลังงาน

1.1 การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์อะซิติกอะซิเตท pH 4.75

ปีเปตสารละลายอะซิติก 0.2871 มิลลิลิตร ใส่ขวดปรับปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ชั่งเกลือโซเดียมอะซิเตท 0.4102 กรัม ใส่ขวดปรับปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น นำสารละลายทั้งสองขวดมาผสมกัน แล้ววัดค่า pH ด้วย pH meter จะได้สารละลายบัฟเฟอร์ 4.75 ปริมาตร 2000 มิลลิลิตร

1.2 การเตรียมสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์

ชั่งซิลเวอร์ไนเตรท 0.4247 กรัม ละลายด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ ใส่ขวดปรับปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร และปรับปริมาตร จะได้สารละลายซิลเวอร์ไนเตรทความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 250 มิลลิลิตร

1.3 การเตรียมสารละลายพอลิเมทาคลิลิกแอซิด

1.3.1 การเตรียมสารละลายพอลิเมทาคลิลิกแอซิด ความเข้มข้น 30 มิลลิโมลาร์

ปีเปตสารละลายพอลิเมทาคลิลิกแอซิด 0.5161 มิลลิลิตร ใส่ขวดปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ ได้สารละลายพอลิเมทาคลิลิกแอซิดความเข้มข้น 30 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

1.3.2 การเตรียมสารละลายพอลิเมทาคลิลิกแอซิด ความเข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์

ปีเปตสารละลายพอลิเมทาคลิลิกแอซิด 0.4301 มิลลิลิตร ใส่ขวดปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ ได้สารละลายพอลิเมทาคลิลิกแอซิดความเข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

1.3.3 การเตรียมสารละลายพอลิเมทาคลิลิกแอซิด ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์

ปีเปตสารละลายพอลิเมทาคลิลิกแอซิด 0.3441 มิลลิลิตร ใส่ขวดปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ ได้สารละลายพอลิเมทาคลิลิกแอซิดความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

1.3.4 การเตรียมสารละลายพอลิเมทาคลิลิกแอซิด ความเข้มข้น 15 มิลลิโมลาร์

ปีเปตสารละลายพอลิเมทาคลิลิกแอซิด 0.2581 มิลลิลิตร ใส่ขวดปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ ได้สารละลายพอลิเมทาคลิลิกแอซิดความเข้มข้น 15 มิลลิโมลาร์

1.3.5 การเตรียมสารละลายพอลิเมทาคลิลิคแอซิด ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์
 ปิเปตสารละลายพอลิเมทาคลิลิคแอซิด 0.1720 มิลลิลิตร ใส่ขวดปรับ
 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ ได้สารละลายพอลิเมทาคลิลิค
 แอซิดความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

1.3.6 การเตรียมสารละลายพอลิเมทาคลิลิคแอซิด ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์
 ปิเปตสารละลายพอลิเมทาคลิลิคแอซิด 0.0860 มิลลิลิตร ใส่ขวดปรับ
 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ ได้สารละลายพอลิเมทาคลิลิค
 แอซิดความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2. การศึกษาปรากฏการณ์รั้วของสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนและสารละลาย มาตรฐานซิสเทอีน

2.1 การเตรียมสารละลายเอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิด

2.1.1 การเตรียมสารละลายเอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิดความเข้มข้น
 100 มิลลิโมลาร์

ชั่งเอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิดมา 2.9224 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น
 ใส่ขวดปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตร จะได้สารละลายเอทิลีนได-
 เอมีนเตตระอะซิติกแอซิดเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2.1.2 การเตรียมสารละลายเอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิดความเข้มข้น
 75 มิลลิโมลาร์

ปิเปตสารละลายเอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิดความเข้มข้น
 100 มิลลิโมลาร์มา 75 มิลลิลิตร ใส่ขวดปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร และ
 ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายเอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิด
 เข้มข้น 75 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2.1.3 การเตรียมสารละลายเอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิดความเข้มข้น
 50 มิลลิโมลาร์

ปิเปตสารละลายเอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิดความเข้มข้น
 75 มิลลิโมลาร์มา 66.67 มิลลิลิตร ใส่ขวดปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร และ
 ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายเอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิด
 เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2.1.4 การเตรียมสารละลายเอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิดความเข้มข้น
 40 มิลลิโมลาร์

ปิเปตสารละลายเอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิดความเข้มข้น
 50 มิลลิโมลาร์มา 80 มิลลิลิตร ใส่ขวดปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายเอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิดเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2.1.5 การเตรียมสารละลายเอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิดความเข้มข้น 30 มิลลิโมลาร์

ปีเปตสารละลายเอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิดความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์มา 75 มิลลิลิตร ใส่ขวดปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายเอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิดเข้มข้น 30 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2.1.6 การเตรียมสารละลายเอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิดความเข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์

ปีเปตสารละลายเอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิดความเข้มข้น 30 มิลลิโมลาร์มา 83.33 มิลลิลิตร ใส่ขวดปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายเอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิดเข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2.1.7 การเตรียมสารละลายเอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิดความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์

ปีเปตสารละลายเอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิดความเข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์มา 40 มิลลิลิตร ใส่ขวดปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายเอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิดเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2.1.8 การเตรียมสารละลายเอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิดความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์

ปีเปตสารละลายเอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิดความเข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์มา 40 มิลลิลิตร ใส่ขวดปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายเอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิดเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2.2 วิธีการศึกษาปรากฏการณ์รับรู้ของสารละลาย AgNPs-EDTA และสารละลายมาตรฐานซิสเทอีน

2.2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานซิสเทอีน ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชั่งซิสเทอีนมา 0.05 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ใส่ขวดปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตร ได้สารละลายมาตรฐานซิสเทอีน ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่... ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า...
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานซิสเทอีน ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตสารละลายมาตรฐานซิสเทอีนความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตรมา 20 มิลลิลิตร ใส่ขวดปรับปริมาตร 50 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ได้สารละลายมาตรฐานซิสเทอีน ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

2.2.3 การเตรียมสารละลายมาตรฐานซิสเทอีน ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตสารละลายมาตรฐานซิสเทอีนความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตรมา 37.5 มิลลิลิตร ใส่ขวดปรับปริมาตร 50 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ได้สารละลายมาตรฐานซิสเทอีน ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

2.2.4 การเตรียมสารละลายมาตรฐานซิสเทอีน ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตสารละลายมาตรฐานซิสเทอีนความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตรมา 16.67 มิลลิลิตร ใส่ขวดปรับปริมาตร 50 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ได้สารละลายมาตรฐานซิสเทอีน ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

2.2.5 การเตรียมสารละลายมาตรฐานซิสเทอีน ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตสารละลายมาตรฐานซิสเทอีนความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตรมา 25 มิลลิลิตร ใส่ขวดปรับปริมาตร 50 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ได้สารละลายมาตรฐานซิสเทอีน ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

2.2.6 การเตรียมสารละลายมาตรฐานซิสเทอีน ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตสารละลายมาตรฐานซิสเทอีนความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรมา 25 มิลลิลิตร ใส่ขวดปรับปริมาตร 50 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ได้สารละลายมาตรฐานซิสเทอีน ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

2.2.7 การเตรียมสารละลายมาตรฐานซิสเทอีน ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตสารละลายมาตรฐานซิสเทอีนความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตรมา 20 มิลลิลิตร ใส่ขวดปรับปริมาตร 50 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ได้สารละลายมาตรฐานซิสเทอีน ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

2.3 การเตรียมสารละลายมาตรฐานซิสเทอีนสำหรับการศึกษาค่าร้อยละของการคืนกลับ (%Recovery)

2.3.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานซิสเทอีน ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชั่งซิสเทอีนมา 0.05 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ใส่ขวดปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตร ได้สารละลายมาตรฐานซิสเทอีน ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2.3.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานซิสเทอีน ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตสารละลายมาตรฐานซิสเทอีน ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร มา 20 มิลลิลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายมาตรฐานซิสเทอีนความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.3.3 การเตรียมสารละลายมาตรฐานซิสเทอีน ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตสารละลายมาตรฐานซิสเทอีน ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร มา 25 มิลลิลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายมาตรฐานซิสเทอีนความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.3.4 การเตรียมสารละลายมาตรฐานซิสเทอีน ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตสารละลายมาตรฐานซิสเทอีน ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร มา 25 มิลลิลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายมาตรฐานซิสเทอีนความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.3.5 การเตรียมสารละลายมาตรฐานซิสเทอีน ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตสารละลายมาตรฐานซิสเทอีน ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร มา 16.67 มิลลิลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายมาตรฐานซิสเทอีนความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.3.6 การเตรียมสารละลายมาตรฐานซิสเทอีน ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร

เปิดสารละลายมาตรฐานซิสเทอีน ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร มา 37.5 มิลลิลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายมาตรฐานซิสเทอีนความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.3.7 การเตรียมสารละลายมาตรฐานซิสเทอีน ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร

เปิดสารละลายมาตรฐานซิสเทอีน ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร มา 20 มิลลิลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายมาตรฐานซิสเทอีนความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาคผนวก ข

การคำนวณผลการทดลอง

1. การเตรียมสารละลายในการสังเคราะห์อนุภาคเงินในระดับนาโนด้วยวิธีเคมีสีเขียว โดยมีแสงอัลตราไวโอเล็ตเป็นแหล่งให้พลังงาน

1.1 การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์อะซิติกอะซิเตท pH 4.75

$$\begin{aligned}
 \text{pH} &= \text{pK}_a + \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]} ; \quad \text{pK}_a = 1.8 \times 10^{-5} \\
 4.75 &= (-\log 1.8 \times 10^{-5}) + \log \frac{[\text{CH}_3\text{COONa}]}{[\text{CH}_3\text{COOH}]} \\
 4.75 &= 4.75 + \log \frac{[\text{CH}_3\text{COONa}]}{[\text{CH}_3\text{COOH}]} \\
 \log \frac{[\text{CH}_3\text{COONa}]}{[\text{CH}_3\text{COOH}]} &= 0 \\
 \frac{[\text{CH}_3\text{COONa}]}{[\text{CH}_3\text{COOH}]} &= \text{antilog } 0 \\
 &= 10^0 \\
 &= 1
 \end{aligned}$$

ดังนั้นในสารละลายอะซิติกอะซิเตทจะประกอบด้วย

$$[\text{CH}_3\text{COONa}] = 0.5 \text{ M}$$

$$[\text{CH}_3\text{COOH}] = 0.5 \text{ M}$$

เมื่อต้องการใช้ 10 mM ฉะนั้นจะประกอบด้วย

$$[\text{CH}_3\text{COONa}] = 5 \text{ M}$$

$$[\text{CH}_3\text{COOH}] = 5 \text{ M}$$

1.1.1 เกลืออะซิเตท 5 มิลลิโมลาร์ 1000 มิลลิลิตร

$$\begin{aligned} \frac{g}{MW} &= \frac{CV}{1000} \\ \frac{g}{82.03} &= \frac{(5 \times 10^{-3})(1000)}{1000} \\ g &= 0.4102 \end{aligned}$$

1.1.2 กรดอะซิติก 5 มิลลิโมลาร์ 1000 มิลลิลิตร

$$\begin{aligned} C &= \frac{(\%99.7 \times 10 \times 1.048)}{MW} \\ &= \frac{(\%99.7 \times 10 \times 1.048)}{60} \\ &= 17.41 \text{ M} \\ C_1V_1 &= C_2V_2 \\ 17.41 \times V_1 &= (5 \times 10^{-3})(1000) \\ V_1 &= 0.2871 \text{ mL} \end{aligned}$$

1.2 การเตรียมสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์

$$\begin{aligned} \frac{g}{MW} &= \frac{CV}{1000} \\ \frac{g}{169.87} &= \frac{10 \times 10^{-3}}{4} \\ g &= 0.4247 \end{aligned}$$

1.3 การเตรียมสารละลายพอลิเมทาคลิลิกแอซิด

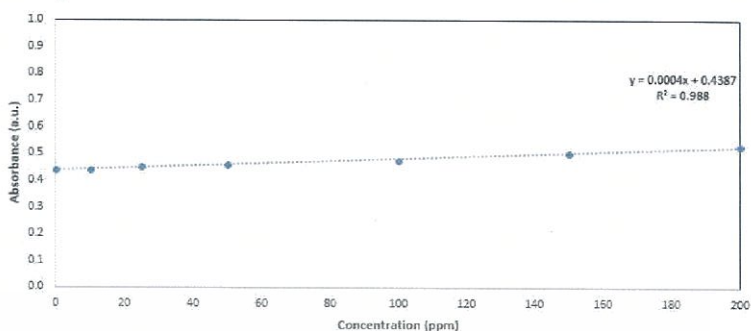
$$\begin{aligned} C &= \frac{\% \times 10 \times d}{MW} \\ &= \frac{40 \times 10 \times 1.251}{86.09} \\ &= 5.81 \text{ M} \\ C_1V_1 &= C_2V_2 \\ 5.81 \times V_1 &= (30 \times 10^{-3})(100) \\ V_1 &= 0.5161 \text{ mL} \end{aligned}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การตรวจวัดซีสเทอีนโดยใช้สารละลายอนุภาคเงินในระดับนาโน (AgNPs)

2.1 การคำนวณค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of detection, LOD)

No.	Abs
1	0.4426
2	0.4438
3	0.4426
4	0.4429
5	0.4429
6	0.4431
7	0.4436
8	0.4421
9	0.4435
10	0.4425
ค่าเฉลี่ย	0.44296
SD	0.000542



คำนวณ

$$\text{จากสูตร LOD} = \frac{3\text{SD of blank}}{\text{Slope}}$$

$$= \frac{3 \times 0.000542}{0.0004}$$

$$= 4.065 \text{ ppm}$$

$$\text{จากสูตร LOQ} = \frac{10\text{SD of blank}}{\text{Slope}}$$

$$= \frac{10 \times 0.000542}{0.0004}$$

$$= 13.55 \text{ ppm}$$

2.2 การคำนวณค่าร้อยละของการคืนกลับ (%Recovery)

$$\text{สูตร } \% \text{Recovery} = \frac{\text{spike sample} - \text{sample}}{\text{Standard}} \times 100$$

Standard	Found			Average	Spike	Found			Average	SD	%Recovery	%RSD
10	9.75	10.25	10.25	10.083333	5	14	15	16.25	15.08333333	1.127312438	100	7.4739
50	47	50	51.25	49.416667	10	59.25	59.75	60.75	59.91666667	0.763762616	105	1.2747
100	99.5	99.75	100.25	99.833333	15	114.5	114.75	115.5	114.9166667	0.5204165	100.556	0.4529
150	148.75	150.5	152	150.41667	20	169.25	171.25	172.5	171	1.639359631	102.9165	0.9587

ตัวอย่างการคำนวณ %Recovery และ %RSD ของสารละลายมาตรฐานซีสเทอีนความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

$$\% \text{Recovery} = \frac{15.0833 - 10.083}{5} \times 100$$

$$= 1.00006 \times 100$$

$$= 100$$

$$\text{สูตร } \% \text{RSD} = \frac{\text{SD}}{\bar{X}} \times 100$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\begin{aligned}
 \text{SD} &= \sqrt{\frac{(X_i - \bar{X})^2}{n-1}} \\
 &= \sqrt{\frac{(14-15.083)^2 + (15-15.083)^2 + (16.25-15.083)^2}{3-1}} \\
 &= 1.1273 \\
 \% \text{RSD} &= \frac{1.1273}{15.0833} \times 100 \\
 &= 7.473
 \end{aligned}$$



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
คำรับรองเล่มโครงการพิเศษ

วันที่ 25 เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2561

ข้าพเจ้า	นางสาวฉัตรชนก	วีระเทศ	รหัสนักศึกษา 57050391
	นางสาวนิภาศิริ	อุตอามาต	รหัสนักศึกษา 57050440
	นางสาวอสมมาตร	แซ่วู้	รหัสนักศึกษา 57050557

นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชา เคมีอุตสาหกรรม ภาควิชา เคมี

ขอรับรองว่าโครงการพิเศษ เรื่อง

ชื่อภาษาไทย การเพิ่มเสถียรภาพของอนุภาคเงินระดับนาโน โดยใช้เอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิด
สำหรับการตรวจวัดเชิงสีของซิสเทอีน

ชื่อภาษาอังกฤษ EDTA DOUBLE STABILIZATION OF SILVER NANOPARTICLES FOR COLORIMETRIC
MEASURING OD CYSTEINE

ปีการศึกษา 2560

เป็นผลงานวิจัยที่ได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่นและได้ผ่านการตรวจสอบความซ้ำซ้อนเรียบร้อยแล้ว และได้
แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนงานวรรณกรรมที่ตรวจสอบจากเล่มโครงการพิเศษฉบับสมบูรณ์แล้ว

โปรแกรมอักขราวิสุทธิ์ 0.00 %

ลงชื่อ.....*ฉัตรชนก วีระเทศ*..... ลงชื่อ.....*นิภาศิริ อุตอามาต*..... ลงชื่อ.....*อสมมาตร แซ่วู้*.....
(นางสาวฉัตรชนก วีระเทศ) (นางสาวนิภาศิริ อุตอามาต) (นางสาวอสมมาตร แซ่วู้)
นักศึกษา นักศึกษา นักศึกษา

ข้าพเจ้า ผศ.ดร. เอกรัฐ เดชตรี อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ ได้ตรวจสอบโครงการพิเศษของนักศึกษาข้างต้น
แล้ว ขอรับรองว่าเป็นผลงานวิจัยของนักศึกษาจริงและมีเนื้อหาสมบูรณ์ จึงลงชื่อไว้เป็นหลักฐาน

ลงชื่อ.....*เอกรัฐ เดชตรี*..... ลงชื่อ.......... ลงชื่อ.....
อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้