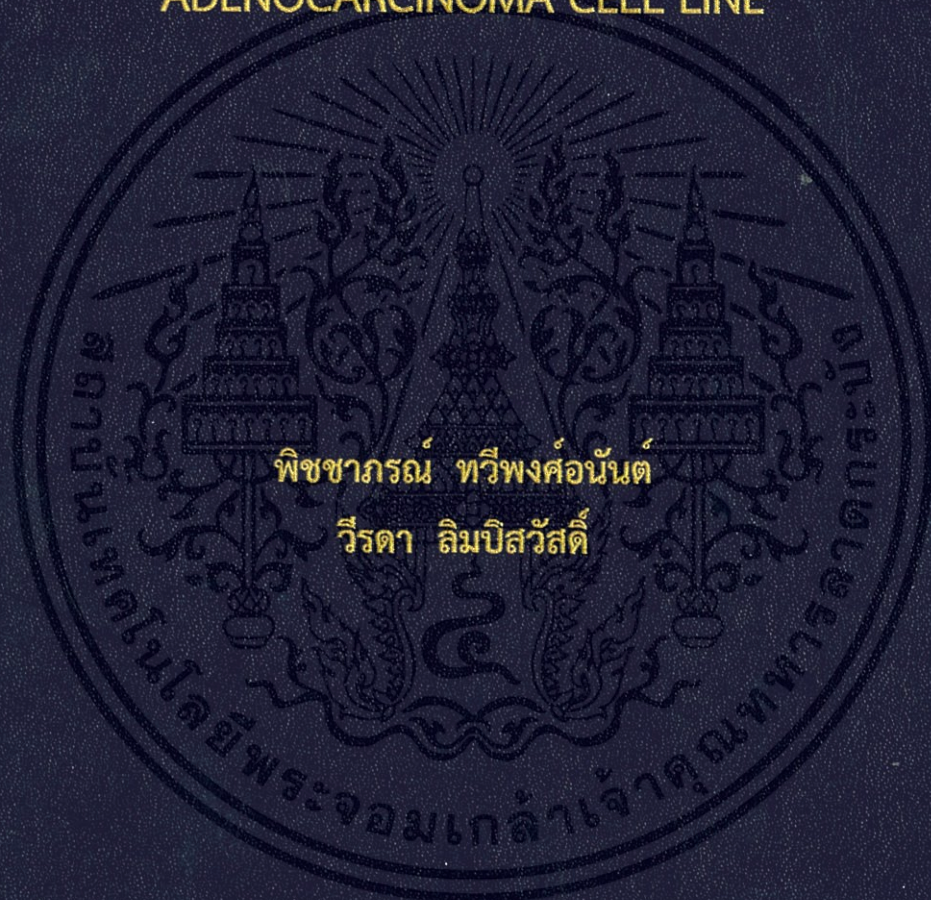


ผลของอนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ต่อความเป็นพิษ  
ในเซลล์มะเร็งเต้านม

INVESTIGATING TOXICITY ASPECTS OF  $\text{TiO}_2$   
NANOPARTICLES ON THE HUMAN BREAST  
ADENOCARCINOMA CELL LINE



พิชชาภรณ์ ทวีพวงศนันต์

วีรดา สิมบิลสวัสดิ์

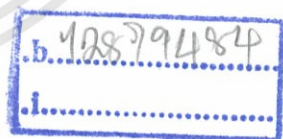
โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (ฟิสิกส์ประยุกต์)  
ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ปีการศึกษา 2558

ผลของอนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ต่อความเป็นพิษ  
ในเซลล์มะเร็งเต้านม

INVESTIGATING TOXICITY ASPECTS OF  $TiO_2$   
NANOPARTICLES ON THE HUMAN BREAST  
ADENOCARCINOMA CELL LINE



เลขหมู่.....  
เลขทะเบียน...149022  
วัน,เดือน,ปี...2.7.S.A. 2560



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (ฟิสิกส์ประยุกต์)  
ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ปีการศึกษา 2558

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

INVESTIGATING TOXICITY ASPECTS OF  $\text{TiO}_2$   
NANOPARTICLES ON THE HUMAN BREAST  
ADENOCARCINOMA CELL LINE



PHICHAPORN THAWEEPONGANAN  
WEERADA LIMPISAWAT

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF  
THE REQUIREMENTS FOR  
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (APPLIED PHYSICS)  
DEPARTMENT OF PHYSICS, FACULTY OF SCIENCE  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG  
ACADEMIC YEAR 2015

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้





หัวข้อโครงการพิเศษ ผลของอนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ต่อความเป็นพิษใน เซลล์มะเร็งเต้านม

Investigating Toxicity Aspects of TiO<sub>2</sub> Nanoparticles on the Human Breast Adenocarcinoma Cell Line

ชื่อนักศึกษา นางสาวพิชชาภรณ์ ทวีพงศ์อนันต์ รหัสนักศึกษา 55051564  
นางสาววีรดา ลิ้มปัสวีส์ดี รหัสนักศึกษา 55051614

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (ฟิสิกส์ประยุกต์)  
ภาควิชา ฟิสิกส์  
ปีการศึกษา 2558  
อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.กฤษกร โล้เจริญรัตน์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้  
โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต(ฟิสิกส์ประยุกต์)  
ประจำปีการศึกษา 2558

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.ภัทรียา ดำรงค์ศักดิ์ ประธานกรรมการ	
ดร.อาภาภรณ์ สุกุลการะเวก กรรมการ	
ดร.พิศาล สุขวิสูตร กรรมการ	
ผศ.ดร.กฤษกร โล้เจริญรัตน์ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	ผลของอนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ต่อความเป็นพิษในเซลล์มะเร็งเต้านม
ชื่อนักศึกษา	นางสาวพิชชาภรณ์ ทวีพงศ์อนันต์ รหัสนักศึกษา 55051564 นางสาววีรดา ลิ้มปิสวัสดิ์ รหัสนักศึกษา 55051614
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (ฟิสิกส์ประยุกต์)
ภาควิชา	ฟิสิกส์
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2558
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.กฤษกร โส้เจริญรัตน์

### บทคัดย่อ

ในบรรดากลุ่มโลหะออกไซด์ที่มีขนาดอนุภาคอยู่ในระดับนาโนเมตรนั้นไททาเนียมไดออกไซด์เป็นสารที่มีความพิเศษและน่าสนใจมากที่สุดตัวหนึ่ง เนื่องจากมีคุณสมบัติเฉพาะตัวในด้านการฆ่าเชื้อไวรัส และแบคทีเรีย ผ่านกระบวนการโฟโตคะตะไลซิสโดยใช้แสงอัลตราไวโอเล็ต โครงการพิเศษนี้เป็นการศึกษาผลของอนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ต่อความเป็นพิษในเซลล์มะเร็งเต้านม ซึ่งในการทดลองนี้จะศึกษาสมบัติเชิงแสงของไททาเนียมไดออกไซด์และซิงค์ออกไซด์เพื่อนำผลที่ได้มาเปรียบเทียบกัน พบว่าไททาเนียมไดออกไซด์และซิงค์ออกไซด์มีค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารละลายเพิ่มขึ้นและค่าการดูดกลืนแสงจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารละลายลดลง ซึ่งเป็นไปตามกฎของเบียร์และแลมเบิร์ต ไททาเนียมไดออกไซด์และซิงค์ออกไซด์จะเข้าสู่เซลล์มะเร็งเต้านมโดยกระบวนการฟิโนไซโทซิสและหลังจากที่ไททาเนียมไดออกไซด์และซิงค์ออกไซด์เข้าสู่เซลล์มะเร็งเต้านมแล้ว จะเกิดกระบวนการโฟโตคะตะไลซิส ซึ่งจะเกิดเป็นออกซิเจนไดออกไซด์ ( $O_2^{\cdot -}$ ) และไฮดรอกซิล ( $OH^{\cdot}$ ) เป็นตัวไปจับกับนิวเคลียสของเซลล์มะเร็งเต้านม ส่วนในด้านของผลกระทบของไททาเนียมไดออกไซด์และซิงค์ออกไซด์ที่มีต่อเซลล์มะเร็งเต้านมนั้น พบว่าไททาเนียมไดออกไซด์และซิงค์ออกไซด์มีความสามารถในการจับกับโลหะเชิงซ้อนได้ผลดีที่สุดเมื่อถูกกระตุ้นด้วย UV ไททาเนียมไดออกไซด์จะมีอัตราการแพร่เข้าสู่เซลล์มะเร็งเต้านมได้น้อยกว่าซิงค์ออกไซด์ ทำให้ประสิทธิภาพในการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมไม่ดีจึงส่งผลให้เซลล์มะเร็งเต้านมมีชีวิตรอดมากกว่าเมื่อเทียบกับซิงค์ออกไซด์

**คำสำคัญ :** ซิงค์ออกไซด์, ไททาเนียมไดออกไซด์, โฟโตคะตะไลซิส

Title	Investigating Toxicity Aspects of TiO <sub>2</sub> Nanoparticles on the Human Breast Adenocarcinoma Cell Line
Student	Miss Phichaporn Thaweeponganan Student ID 55051564 Miss Weerada Limpisawat Student ID 55051614
Degree	Bachelor of Science (Applied Physics)
Department	Physics
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2015
Advisor	Asst.Prof.Dr.Kitsakorn Locharoenrat

### Abstract

Among the metal oxide species with their sizes of the nanometer scale, titanium dioxide is interesting nanomaterial due to unique features in terms of killing the virus and bacteria through the process of photocatalysis under ultraviolet light. This special project aims to study the toxicity aspects of titanium dioxide nanoparticles on the human breast adenocarcinoma cell line. We have studied and compared the optical properties of titanium dioxide and zinc oxide. It is found that absorption of titanium dioxide and zinc oxide are dependent of their concentrations in according to Beer-Lambert law. Titanium dioxide and zinc oxide deliver to breast cancer cells by pinocytosis. Under light irradiation, electron – hole pair from metal oxide will produce oxygen dioxide (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) and hydroxyl (OH<sup>•</sup>). This free radicals will accumulate around nucleus of the cell. In the aspect of the effect of titanium dioxide and zinc oxide on breast cancer cells, it is found that titanium dioxide and zinc oxide is capable of good binding under UV. Since diffusion rate of Titanium dioxide into breast cancer cells is smaller than zinc oxide, cell killing effect of Titanium dioxide is poor as compared with Zinc oxide. The live cell is therefore bigger than Zinc oxide.

**Keywords:** Photocatalysis, Titanium dioxide, Zinc oxide

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษเล่มนี้เป็นการศึกษาผลของอนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ต่อความเป็นพิษในเซลล์มะเร็งเต้านม ซึ่งเป็นการศึกษาที่มีความซับซ้อนหลายขั้นตอน โดยเฉพาะในด้านของการเตรียมเซลล์มะเร็งเต้านม และการเตรียมสารละลายอนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ ดังนั้น คณะผู้จัดทำต้องขอขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.กฤษกร โส้เจริญรัตน์ ที่ได้ให้ความรู้ คำแนะนำ การสนับสนุนและช่วยแก้ปัญหาต่างๆ อย่างถูกวิธีทำให้โครงการพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ภัทริยา ดำรงค์ศักดิ์ ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์เครื่องสเปกโทรมิเตอร์ ขอขอบพระคุณ ดร.อาภาภรณ์ สุกุลการะเวก, ดร.พิศาล สุขวิสูตร และ ผศ.สาหร่าย เล็กชะอุม ที่ได้ให้คำแนะนำสำหรับการทำรูปเล่มรายงานโครงการพิเศษ ขอขอบพระคุณ ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล อาจารย์ภาควิชาชีววิทยา ที่ได้ช่วยเหลือในขั้นตอนการเตรียมเซลล์มะเร็งเต้านม ขอขอบพระคุณ ผู้เขียนบทความสำหรับบทความที่ได้นำมาอ้างอิงในโครงการพิเศษเล่มนี้ และขอขอบพระคุณบิดามารดาที่ให้การสนับสนุน เป็นกำลังใจในการทำงานตลอดมา รวมถึงพี่ๆ เพื่อนๆ ทุกคนที่คอยให้ความช่วยเหลือ หากโครงการพิเศษเล่มนี้มีข้อผิดพลาดประการใด คณะผู้จัดทำต้องขอภัยไว้ ณ ที่นี้ด้วย

พิชชาภรณ์ ทวีพงศ์อนันต์

วีรดา ลิ้มปิสวัสดิ์

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ช
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	<b>1</b>
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	1
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ขั้นตอนการดำเนินงาน	2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
<b>บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b>	<b>4</b>
2.1 ไททาเนียมไดออกไซด์	4
2.2 กระบวนการเร่งปฏิกิริยาด้วยแสง	5
2.2.1 ผลของตัวเร่งปฏิกิริยาไททาเนียมไดออกไซด์ต่อสิ่งมีชีวิต	6
2.2.2 ผลของตัวเร่งปฏิกิริยาไททาเนียมไดออกไซด์ผสมด้วยโลหะอื่น	7
2.3 มะเร็งเต้านม	8
2.4 เซลล์ไลน์	10
2.5 การลำเลียงสารผ่านเซลล์	11
2.5.1 การลำเลียงสารแบบผ่านเยื่อหุ้มเซลล์	11
2.5.2 การลำเลียงสารแบบไม่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์	12
2.6 การนับจำนวนเซลล์	13
2.7 การวัดค่าการดูดกลืนแสง	15
2.8 เครื่องมือที่วัดการดูดกลืนแสง	15
2.9 กฎของเบียร์และแลมเบิร์ต (Beer-Lambert Law)	18
2.10 ความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสารละลาย	19
2.11 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
<b>บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย</b>	22
3.1 สารเคมี และอุปกรณ์เครื่องมือ	22
3.1.1 สารเคมี	22
3.1.2 เครื่องมือ	22
3.1.3 เครื่องแก้ว	22
3.1.4 วัสดุ	23
3.2 วิธีการทดลอง	23
3.2.1 การเตรียมสารละลายอนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์และ การวัดค่าการดูดกลืน	23
3.2.2 การทำ Calibration Curve เพื่อตรวจหาความสามารถของ ไททาเนียมไดออกไซด์ในการจับกับ $Fe^{2+}$	25
3.2.3 การเติมไททาเนียมไดออกไซด์ลงใน MCF-7	26
3.2.4 ขั้นตอนการนับเซลล์	28
<b>บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล</b>	31
4.1 การศึกษาสมบัติเชิงแสงของไททาเนียมไดออกไซด์และซิงค์ออกไซด์	31
4.1.1 การศึกษาสมบัติเชิงแสงของไททาเนียมไดออกไซด์	31
4.1.2 การศึกษาสมบัติเชิงแสงของซิงค์ออกไซด์	32
4.1.3 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงที่พีคสูงสุดของไททาเนียมไดออกไซด์ และซิงค์ออกไซด์	34
4.2 ผลกระทบของไททาเนียมไดออกไซด์และซิงค์ออกไซด์ ที่มีต่อเซลล์มะเร็งเต้านม	34
4.2.1 ผลกระทบของไททาเนียมไดออกไซด์ที่มีต่อเซลล์มะเร็งเต้านม	34
4.2.2 ผลกระทบของซิงค์ออกไซด์ที่มีต่อเซลล์มะเร็งเต้านม	36
4.2.3 ผลกระทบของไททาเนียมไดออกไซด์และซิงค์ออกไซด์ ที่มีต่อเซลล์มะเร็งเต้านม	38
<b>บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ</b>	42
5.1 สรุปผลการวิจัย	42
5.2 ข้อเสนอแนะ	43
เอกสารอ้างอิง	44
ภาคผนวก	46

# สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1.1 แนวทางการดำเนินงาน	2
3.1 อุปกรณ์ประเภทเครื่องแก้ว	22
3.2 อุปกรณ์ประเภทวัสดุ	23



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	แสดงโครงสร้างผลึกแบบ (ก) อะนาเทส (ข) รูไทล์ และ (ค) บรูกไซต์	4
2.2	แสดงแถบพลังงานของสารตัวนำและสารกึ่งตัวนำ	5
2.3	กระบวนการเร่งปฏิกิริยาด้วยแสงของไททาเนียมไดออกไซด์	6
2.4	แสดงกลไกการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย	7
2.5	เซลล์ไลน์มะเร็งเต้านมของมนุษย์	10
2.6	การลำเลียงสารออกจากเซลล์	12
2.7	การลำเลียงสารเข้าเซลล์ในแบบต่างๆ	13
2.8	สูตรโครงสร้างของสี่ทริปแฟนบลู	13
2.9	ฮีมาไซโตมิเตอร์	14
2.10	ตาราง 1 Chamber บนฮีมาไซโตมิเตอร์	14
2.11	ลำแสงที่เคลื่อนที่ผ่านสารตัวอย่าง	15
2.12	หลักการการทำงานของเครื่องสเปกโตรมิเตอร์แบบลำแสงเดี่ยว	16
2.13	หลักการการทำงานของเครื่องสเปกโตรมิเตอร์แบบลำแสงคู่	17
2.14	หลักการการทำงานของเครื่องสเปกโตรมิเตอร์ที่มีไดโอดอาร์เรย์	17
2.15	ลำแสงที่ผ่านเข้าออกสารละลายความเข้มข้น $c$ เป็นระยะทาง $l$	18
2.16	ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนกับ %Transmittance	19
2.17	ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับ %T และ Absorbance	19
3.1	ความเข้มข้นของสารละลายอนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์หลังจากการ Dilute แล้วมีค่าเท่ากับ 2.56, 1.28, 0.64 และ 0.32 mg/mL ตามลำดับ	24
3.2	ความเข้มข้นของสารละลายอนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์หลังจากการ Dilute แล้วมีค่า เท่ากับ 0.16, 0.08, 0.04 และ 0.02 mg/mL ตามลำดับ	24
3.3	ความเข้มข้นของสารละลายอนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์หลังจากการ Dilute แล้วมีค่าเท่ากับ 0.01, 0.005, 0.0025 และ 0 mg/mL ตามลำดับ	25
3.4	แสดงอนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ที่ความเข้มข้น 2.56, 1.28, 0.64, 0.32, 0.16, 0.08, 0.04, 0.02, 0.01, 0.005, 0.0025 และ 0 mg/mL เรียงจากภาพซ้ายไปขวา	25
3.5	แสดงอนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ที่ผสมกับ $FeCl_2 \cdot 4H_2O$ ในความเข้มข้น 2.56, 1.28, 0.64, 0.32, 0.16, 0.08, 0.04, 0.02, 0.01, 0.005, 0.0025 และ 0 mg/mL ตามลำดับเรียงจากภาพซ้ายไปขวา	26
3.6	อนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ที่ถูกเติมลงในหลุมที่มีเซลล์ (As') และหลุมที่เป็นตัวควบคุม (Ac')	27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	เนื้อหา	หน้า
3.7	As ที่ความเข้มข้น 2.56, 1.28, 0.64, 0.32, 0.16, 0.08, 0.04, 0.02, 0.01, 0.005, 0.0025 และ 0 mg/mL ตามลำดับเรียงจากภาพซ้ายไปขวา	27
3.8	Ac ที่ความเข้มข้น 2.56, 1.28, 0.64, 0.32, 0.16, 0.08, 0.04, 0.02, 0.01, 0.005, 0.0025 และ 0 mg/mL ตามลำดับเรียงจากภาพซ้ายไปขวา	28
3.9	นำแผ่น Hemacytometer มาส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์	29
3.10	แสดงช่องการนับเซลล์ทั้งหมด 5 ช่องใหญ่	29
4.1	สเปกตรัมการดูดกลืนแสงกับความยาวคลื่นของสารละลายไททาเนียม ไดออกไซด์ ที่ความเข้มข้น 2.56, 1.28, 0.64, 0.32, 0.16, 0.08, 0.04, 0.02, 0.01, 0.005, 0.0025 และ 0 mg/mL	31
4.2	สเปกตรัมการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายไททาเนียมไดออกไซด์	32
4.3	สเปกตรัมการดูดกลืนแสงกับความยาวคลื่นของสารละลายซิงค์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 2.56, 1.28, 0.64, 0.32, 0.16, 0.08, 0.04, 0.02, 0.01, 0.005, 0.0025 และ 0 mg/mL	33
4.4	สเปกตรัมการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายซิงค์ออกไซด์	33
4.5	สเปกตรัมการดูดกลืนแสงที่พีคสูงสุดของสารละลายไททาเนียม (388 nm) และซิงค์ออกไซด์ (377 nm)	34
4.6	ความสามารถในการจับกับโลหะเชิงซ้อนกับความเข้มข้นของไททาเนียม ไดออกไซด์ที่ถูกกระตุ้นด้วย UV และ Visible light	35
4.7	การมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งเต้านมกับความเข้มข้นของไททาเนียม ไดออกไซด์ที่ถูกกระตุ้นด้วย UV และ Visible light	35
4.8	เซลล์มะเร็งเต้านมที่มีชีวิตรอด (ขนาดเซลล์สี่ ≈ 20 μm)	36
4.9	เซลล์มะเร็งเต้านมที่ตาย (ขนาดเซลล์ทึบแสง ≈ 20 μm)	36
4.10	ความสามารถในการจับกับโลหะเชิงซ้อนกับความเข้มข้นของซิงค์ออกไซด์ที่ถูกกระตุ้นด้วย UV และ Visible light	37
4.11	การมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งเต้านมกับความเข้มข้นของซิงค์ออกไซด์ที่ถูกกระตุ้นด้วย UV และ Visible light	37
4.12	กระบวนการเร่งปฏิกิริยาโดยใช้แสงโฟโตคะตะไลซิส	38
4.13	ความสามารถในการจับกับโลหะเชิงซ้อนกับความเข้มข้นของไททาเนียมไดออกไซด์ และซิงค์ออกไซด์ที่กระตุ้นด้วย UV	39
4.14	สเปกตรัมการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายไททาเนียมไดออกไซด์ ก่อนกระตุ้นด้วย UV (As') และหลังการกระตุ้นด้วย UV (As)	40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.15	สเปกตรัมการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายซิงค์ออกไซด์ ก่อนกระตุ้นด้วย UV (As') และหลังการกระตุ้นด้วยแสง UV (As)	40
4.16	อัตราการแพร่ของสารละลายไททานเนียมไดออกไซด์และซิงค์ออกไซด์ เข้าสู่เซลล์มะเร็งเต้านม	41
4.17	การมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งเต้านมกับความเข้มข้นของไททานเนียมไดออกไซด์ และซิงค์ออกไซด์ที่กระตุ้นด้วย UV	41



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

ในบรรดากลุ่มโลหะออกไซด์ต่างๆ ที่มีขนาดอนุภาคอยู่ในระดับนาโนเมตรนั้น เราจะพบว่าไททาเนียมไดออกไซด์เป็นสารที่มีความพิเศษและน่าสนใจมากที่สุดตัวหนึ่ง เนื่องจากความมีคุณสมบัติเฉพาะตัวในด้านการฆ่าเชื้อไวรัส แบคทีเรีย การบำบัดทางสิ่งแวดล้อมต่างๆ อาทิ เช่น การกำจัดกลิ่น การฟอกอากาศ และการบำบัดน้ำ เป็นต้น โดยอาศัยหลักการเร่งปฏิกิริยาด้วยแสงหรือปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลซิส

ส่วนในทางการแพทย์นั้นได้นำสารไททาเนียมไดออกไซด์มาใช้ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง เนื่องจากไททาเนียมไดออกไซด์นั้นมีคุณสมบัติเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต ผ่านกระบวนการของโฟโตคะตะไลซิส โดยแสงอัลตราไวโอเล็ตที่มีความยาวคลื่นต่ำกว่า 390 นาโนเมตร จะเข้าไปกระตุ้นอิเล็กตรอนที่แถบเวเลนซ์ของอนุภาคไททาเนียมไดออกไซด์ซึ่งเป็นสารประกอบกึ่งตัวนำ จึงสามารถทำปฏิกิริยาต่อเนื่องกับโมเลกุลน้ำที่ผิวและทำให้เกิดเป็นสารอนุมูลอิสระที่เป็นสารออกซิไดซ์ เช่น ไฮดรอกซิลไอออน (Hydroxyl Ions) และซูเปอร์ออกไซด์ไอออน (Superoxide Ions) ซึ่งอนุมูลอิสระเหล่านี้มีประสิทธิภาพในการกำจัดสารอินทรีย์ต่างๆ โดยทำให้เกิดการแตกสลายตัวเป็นน้ำและคาร์บอนไดออกไซด์ในที่สุด ยกตัวอย่างเช่น เมื่อเรากล่าวถึงกลไกการฆ่าเชื้อแบคทีเรียจะเกี่ยวข้องกับ ไฮดรอกซิลเรดิคัลไปทำปฏิกิริยากับหมู่อะมิโนของโมเลกุลของกลุ่มจุลินทรีย์ เช่นเดียวกัน จึงเป็นผลทำให้เซลล์เมมเบรนนั้นถูกทำลาย และเป็นสาเหตุทำให้เซลล์ตายในที่สุด

### 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1) เพื่อศึกษาผลของความเข้มข้นของอนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ต่อการทำลายเซลล์มะเร็ง
- 2) เพื่อการศึกษาผลของการใช้อนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ผ่านปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลซิส โดยใช้แสงอัลตราไวโอเล็ตเพื่อก่อให้เกิดพิษต่อเซลล์มะเร็งในเซลล์เพาะเลี้ยง และทำให้เซลล์มะเร็งถูกทำลายต่อไป
- 3) เพื่อศึกษาเปรียบเทียบการใช้อนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์กับซิงค์ออกไซด์ต่อเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยง

### 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้จะใช้อุณหภูมิกานาโนโททาเนียมไดออกไซด์เพื่อใช้ในการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านม โดยใช้เทคนิคของรังสีอัลตราไวโอเล็ต ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 แบบ คือ UV มีความยาวคลื่นประมาณ 100 - 400 nm และ Visible Light มีความยาวคลื่น ประมาณ 400 - 700 nm เพื่อนำมาเปรียบเทียบกัน และหลังจากนั้นผลการทดลองทั้งหมดจะนำไปเปรียบเทียบกับอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ จากโครงการปี พ.ศ. 2557

### 1.4 ขั้นตอนการดำเนินงาน

โครงการมีระยะเวลาจัดทำรวมทั้งสิ้น 1 ปี โดยเริ่มจัดทำโครงการต้นตั้งแต่เดือนเมษายน พ.ศ. 2558 ถึง เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2559 ซึ่งมีการดำเนินการข้างต้นสามารถแสดงระยะเวลาดำเนินงานได้ดังตารางที่ 1.1

ตารางที่ 1.1 แนวทางการดำเนินงาน

ผลงาน/กิจกรรม	เดือน 1-2	เดือน 3-4	เดือน 5-6	เดือน 7-8	เดือน 9-10	เดือน 11-12
1) ศึกษากระบวนการเกิดและการทำลายเซลล์มะเร็งในเซลล์สิ่งมีชีวิต	←→					
2) เตรียมเซลล์ทดลอง, ตรวจสอบสภาพเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์	←→					
3) ทรีทเมนต์เซลล์ ทดลองด้วยอนุภาคนาโนโททาเนียมไดออกไซด์ผ่านกระบวนการโพโตคะตะไลซิส, ทดสอบตัวบ่งชี้การทำลายเซลล์ทดลอง		←→				
4) เก็บผลการทดลองและประมวลข้อมูล				←→		
5) สรุปรงานวิจัยพร้อมเขียนรายงาน						←→

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) เข้าใจถึงเทคนิคการใช้อุณหภูมิโนโททาเนียมไดออกไซด์ในการบำบัดรักษามะเร็งอย่างมีประสิทธิภาพ
- 2) เข้าใจถึงสมบัติของอุณหภูมิโนโททาเนียมไดออกไซด์ในการบำบัดรักษามะเร็งอย่างมีประสิทธิภาพ
- 3) เข้าใจถึงผลของการใช้อุณหภูมิโนโททาเนียมไดออกไซด์ผ่านกระบวนการโฟโตคะตะไลซิส โดยใช้แสงอัลตราไวโอเล็ต เพื่อก่อให้เกิดพิษต่อเซลล์มะเร็งเฉพาะเลี้ยงและทำให้เซลล์มะเร็งถูกทำลาย
- 4) สามารถนำความรู้พื้นฐานทั้งในสาขาฟิสิกส์ เคมี และชีววิทยา มาประยุกต์ใช้เพื่อเพิ่มคุณภาพของงานวิจัยและการต่อยอดสู่งานวิจัยเชิงพาณิชย์ต่อไป
- 5) สามารถนำวิธีการวิจัยนี้ไปใช้เป็นทางเลือกใหม่ในการบำบัดรักษามะเร็งในผู้ป่วยโรคมะเร็ง
- 6) สามารถนำงานวิจัยนี้ไปตีพิมพ์ในวารสารระดับชาติหรือนานาชาติได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

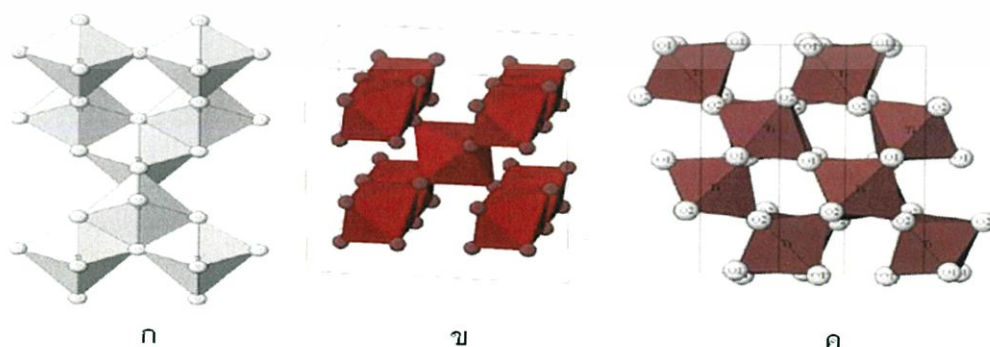
## บทที่ 2

# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เนื้อหาในบทนี้จะกล่าวถึงทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับโครงการพิเศษเรื่องผลของอนุภาคไททาเนียมไดออกไซด์ต่อความเป็นพิษในเซลล์มะเร็งเต้านม โดยทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องมีดังนี้

### 2.1 ไททาเนียมไดออกไซด์

ไททาเนียมไดออกไซด์เป็นสารประกอบออกไซด์ของโลหะไททาเนียมซึ่งเป็นสารกึ่งตัวนำชนิดเอ็น (N-Type Semiconductor) <sup>[1]</sup> มีแถบช่องว่างพลังงาน 3.2 eV เป็นวัสดุที่ถูกนำมาใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาแบบใช้แสงด้วยเหตุผลหลายประการ ซึ่งได้แก่ความสามารถดูดซับแสงในช่วงแสงอัลตราไวโอเล็ตได้ดี เป็นสารดูดซับสารอินทรีย์ที่ดี โครงสร้างทางอิเล็กทรอนิกส์ของไททาเนียมไดออกไซด์เหมาะที่จะใช้ก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับสารอินทรีย์และปฏิกิริยารีดักชันกับออกซิเจน เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาแบบใช้แสงที่มีความสามารถสูงในปฏิกิริยาหลายประเภท มีความเสถียรทางเคมี มีราคาค่อนข้างถูกเป็นต้น ไททาเนียมไดออกไซด์ที่มีขนาดอนุภาคในระดับนาโนเมตรจะมีพื้นที่ผิวจำเพาะมาก เป็นข้อดีในการนำไปใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเนื่องจากสารประกอบอินทรีย์ที่เป็นมลพิษในน้ำจะดูดซับบนบริเวณพื้นผิวของไททาเนียมไดออกไซด์ได้ในปริมาณมาก ทำให้เกิดกระบวนการเร่งปฏิกิริยาด้วยแสงได้ดีกว่าไททาเนียมไดออกไซด์ที่มีพื้นที่ผิวจำเพาะต่ำองค์ประกอบเฟสก็เป็นส่วนที่สำคัญอีกประการหนึ่ง ที่ทำให้มีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาได้ดี ไททาเนียมไดออกไซด์จะอยู่ในรูปของผลึกที่สำคัญ 3 รูป คือ อะนาเทส (Anatase) รูไทล์ (Rutile) และบรูคไคท์ (Brookite) โดยที่เฟสอะนาเทส และรูไทล์จะมีโครงสร้างแบบเททระกอนอล ส่วนบรูคไคท์จะมีโครงสร้างผลึกแบบออร์โทโรมบิก โดยทุกโครงสร้างประกอบขึ้นจากหน่วยพื้นฐานรูปทรงแปดหน้า ( $\text{TiO}_2$  Octahedral) อะตอมไททาเนียม (Ti) หนึ่งอะตอมถูกล้อมรอบด้วยอะตอมออกซิเจน (O) หกอะตอม แต่ละรูปแบบโครงสร้างขึ้นอยู่กับวิธีการบิดเบี้ยวของการจัดเรียงรูปทรงแปดหน้าบริเวณขอบมุมและหน้า ดังแสดงในรูปที่ 2.1



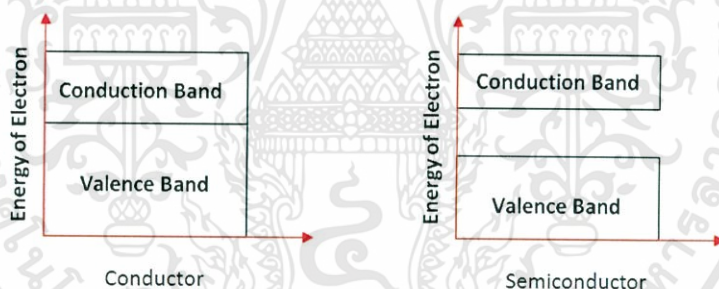
รูปที่ 2.1 แสดงโครงสร้างผลึกแบบ (ก) อะนาเทส (ข) รูไทล์ และ (ค) บรูคไคท์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประโยชน์ของอนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์มีหลายด้าน เช่น ความสามารถด้านการกำจัดกลิ่น ความสามารถในการฟอกอากาศ ความสามารถในการต้านแบคทีเรีย ซึ่งในการต้านแบคทีเรียไม่เพียงแต่ฆ่าแบคทีเรียเท่านั้น แต่ยังช่วยในการย่อยสลายซากของมันด้วย ไททาเนียมไดออกไซด์ที่เป็นสารเร่งปฏิกิริยาด้วยแสงนั้นมีประสิทธิภาพสูงกว่าสารต้านแบคทีเรียชนิดอื่นๆ เนื่องจากปฏิกิริยาจะทำงานเมื่อมีเซลล์แบคทีเรียสัมผัส กับพื้นผิว หรือเมื่อแบคทีเรียแพร่กระจายไปบนพื้นผิวนอกจากนี้สารพิษที่เกิดจากการตายเซลล์ก็จะถูกทำลายจากการเร่งปฏิกิริยาด้วยแสง และที่สำคัญ ไททาเนียมไดออกไซด์จะไม่เกิดการเสื่อมประสิทธิภาพหลังจากที่ทำลายเชื้อแบคทีเรียทำให้มีประสิทธิภาพการใช้งานที่ยาวนาน

## 2.2 กระบวนการเร่งปฏิกิริยาด้วยแสง

โดยทั่วไปสารตัวนำและกึ่งตัวนำจะมีแถบพลังงานอยู่ 2 แถบ คือ แถบเวเลนซ์ (Valence Band) และแถบการนำไฟฟ้า (Conduction Band) <sup>[2]</sup> โดยสารทั้ง 2 ประเภทมีความแตกต่างกันคือ หากเป็นสารตัวนำแถบทั้งสองจะอยู่ติดกัน แต่สารกึ่งตัวนำจะมีแถบช่องว่างพลังงาน (Band Gap) คั่นอยู่ระหว่างแถบพลังงานทั้งสองซึ่งแสดงในรูปที่ 2.2

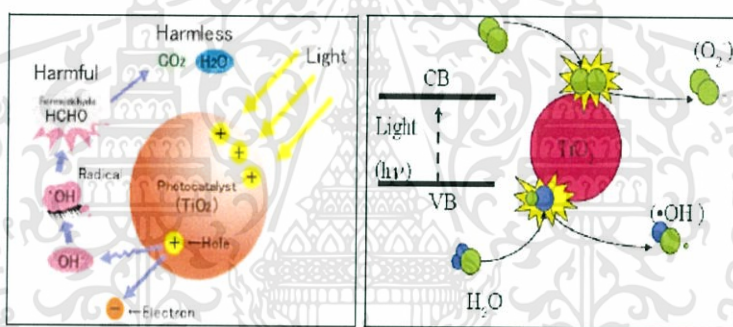


รูปที่ 2.2 แสดงแถบพลังงานของสารตัวนำและสารกึ่งตัวนำ

กลไกการเร่งปฏิกิริยาด้วยแสง ถูกค้นพบโดย Fujishima เมื่อ ค.ศ.1967 <sup>[3]</sup> โดยกระบวนการเร่งปฏิกิริยาด้วยแสงจะเริ่มเมื่อสารกึ่งตัวนำได้รับพลังงานเท่ากับหรือสูงกว่าช่องว่างพลังงาน ซึ่งทำให้อิเล็กตรอน (Electron) ที่สถานะพื้นจะถูกกระตุ้นให้เคลื่อนที่ไปยังแถบกระตุ้นหรือแถบการนำไฟฟ้า และทิ้งช่องว่างอิเล็กตรอนที่แถบเวเลนซ์ไว้เรียกว่า โฮล (Hole) ซึ่งมีประจุบวก ส่วนอิเล็กตรอนที่เคลื่อนที่ไปยังแถบการนำไฟฟ้านั้นจะสามารถกลับมาอยู่ในสถานะเดิม ได้อีกเรียกว่า รีคอมบิเนชัน (Recombination)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

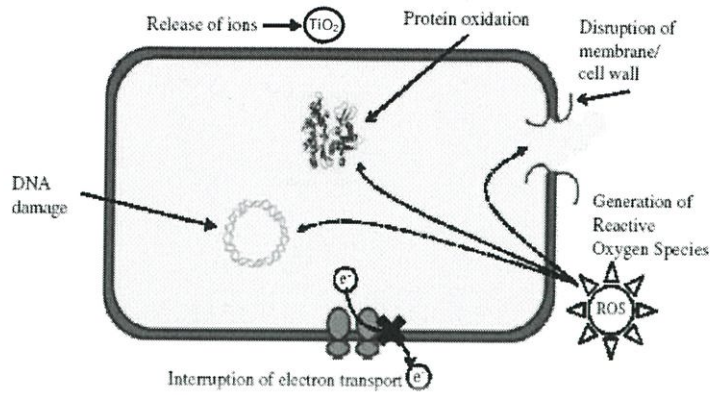
กระบวนการเร่งปฏิกิริยาด้วยแสงโดยส่วนใหญ่จะใช้สารกึ่งตัวนำในกระบวนการเร่งปฏิกิริยาด้วยแสง เช่น ไททาเนียมไดออกไซด์ ซึ่งหลักการเกิดปรากฏการณ์การเร่งปฏิกิริยาด้วยแสงจะเกิดขึ้นเมื่อสารกึ่งตัวนำถูกกระตุ้นด้วยแสงที่มีพลังงานมากกว่าหรือเท่ากับแถบช่องว่างพลังงานของสารกึ่งตัวนำ ทำให้อิเล็กตรอนในแถบเวเลนซ์ถูกกระตุ้นหรือกระโดดขึ้นไปอยู่ในแถบนำไฟฟ้าทำให้ในแถบเวเลนซ์เกิดโฮลขึ้น เมื่อสัมผัสความชื้นหรือน้ำจะก่อให้เกิดไฮดรอกซิลเรดิคัล (Hydroxyl radical:  $\text{OH}^\cdot$ ) และซูเปอร์ออกไซด์เรดิคัลแอนไอออน (Superoxide anion:  $\text{O}_2^-$ ) ดังสมการ ซึ่งก่อให้เกิดไฮดรอกซิลเรดิคัลและซูเปอร์ออกไซด์เรดิคัลแอนไอออน เป็นออกไซด์ที่สามารถเกิดปฏิกิริยากับสารอินทรีย์ทำให้สลายตัวได้ ซึ่งกระบวนการเร่งปฏิกิริยาด้วยแสงแสดงดังรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 กระบวนการเร่งปฏิกิริยาด้วยแสงของไททาเนียมไดออกไซด์

### 2.2.1 ผลของตัวเร่งปฏิกิริยาไททาเนียมไดออกไซด์ต่อสิ่งมีชีวิต

ไททาเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาสำหรับฆ่าเชื้อแบคทีเรียทั้งแบคทีเรียชนิดแกรมบวกและแกรมลบ<sup>[2]</sup> กลไกการย่อยสลายเชื้อแบคทีเรียจะเกิดขึ้นบริเวณพื้นผิวของตัวเร่งปฏิกิริยาไททาเนียมไดออกไซด์ ดังนั้นหากตัวเร่งปฏิกิริยาดังกล่าวมีขนาดอนุภาคเล็กย่อมมีพื้นที่ผิวในการดูดซับเชื้อแบคทีเรียมาก ประสิทธิภาพในการย่อยสลายจึงสูงขึ้นตามไปด้วย อนุมูลอิสระที่เกิดจากปฏิกิริยา เช่น อนุมูลออกซิเจนที่ว่องไว (Reactive Oxygen Species, ROS) จะทำลายผนังเซลล์และเซลล์เมมเบรน ของเชื้อแบคทีเรีย ทำให้เซลล์แตกและของเหลวภายในรั่วไหลออกมา เป็นเหตุให้ เชื้อแบคทีเรียตายในที่สุดแสดงดังรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 แสดงกลไกการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย

## 2.2.2 ผลของตัวเร่งปฏิกิริยาไททาเนียมไดออกไซด์ผสมด้วยโลหะอื่น

การศึกษาที่ผ่านมานอกจากจะใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาไททาเนียมไดออกไซด์เพื่อฆ่าเชื้อแบคทีเรีย<sup>[2]</sup> การศึกษาผลของประสิทธิภาพการใช้งานตัวเร่งปฏิกิริยาดังกล่าวด้วยการเจือด้วยโลหะต่างๆ เช่น เงิน เหล็ก และดีบุก เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เพราะการเจือด้วยโลหะจะทำให้เกิดตำหนิในโครงสร้างของไททาเนียมไดออกไซด์ ดังนั้นจึงมีพื้นที่ผิวในการย่อยสลายเพิ่มขึ้น

การเจือไททาเนียมไดออกไซด์ด้วย  $Fe^{3+}$  สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายได้ เนื่องจากไอออนของโลหะทรานซิชันจะลดพลังงานช่องว่าง (Bandgap Energy) ของไททาเนียมไดออกไซด์ และนอกจากนี้ยังทำให้ ค่าการดูดกลืนแสงเลื่อนไปในช่วงความยาวคลื่นที่เพิ่มขึ้นหรือสามารถเกิดปฏิกิริยาในช่วงที่ตามองเห็น (Visible) กลไกการเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายของไททาเนียมไดออกไซด์ที่เจือด้วย  $Fe^{3+}$  แสดงดังต่อไปนี้



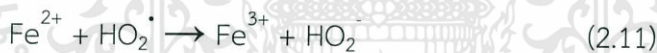
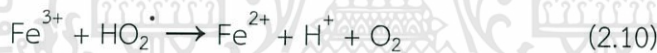
มีรายงานว่า มีหลายสาเหตุที่การเจือตัวเร่งปฏิกิริยาไททาเนียมไดออกไซด์ด้วยไอออนเหล็กทำให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายเพิ่มขึ้น เช่น ไอออนของเหล็กจะเป็นตัวยับยั้งไม่ให้อิเล็กตรอนกับโฮลรวมตัวกัน หรืออัตราการเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายด้วยแสงขึ้นอยู่กับการถ่ายโอนประจุจากไททาเนียมไดออกไซด์ไปยังออกซิเจน ซึ่งไอออนโลหะที่เกาะอยู่บนผิวหน้าของตัวเร่งปฏิกิริยาจะเพิ่มอัตราการถ่ายโอนอิเล็กตรอนไปยัง  $O_2$  (สมการที่ 2.7) หรือการเจือด้วยไอออนเหล็กจะช่วยลดอัตราการรวมกันระหว่างอิเล็กตรอนกับโฮล ทำให้ไฮดรอกซิลเรดิคัลที่เกิดขึ้นมีเพิ่มขึ้น จึงช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการออกซิไดซ์แบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้ยังพบอีกว่าประสิทธิภาพในการย่อยสลายของตัวเร่งปฏิกิริยาที่เจือด้วยไอออนเหล็กเกี่ยวข้องกับกลไกการย่อยสลายโดย Photo Fenton Reaction ซึ่งเกิดจากการแตกพันธะของโมเลกุลจากการดูดกลืนพลังงานแสงทำให้เกิดไฮดรอกซิลเรดิคัล เช่น การแตกพันธะของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ( $H_2O_2$ ) ได้ ไฮดรอกซิลเรดิคัล เนื่องจากปฏิกิริยารีดอกซ์ของไอออนเหล็ก โดย Ferrous Iron (II) จะถูกออกซิไดซ์ ด้วย  $H_2O_2$  ได้ไฮดรอกซิลเรดิคัล ไฮดรอกซิลแอนไอออน และไอออนเหล็กที่มีประจุเท่ากับ 3 (Ferric Iron (III)) ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับ  $H_2O_2$  ได้เปอร์ออกไซด์เรดิคัล โปรตอน และไอออนเหล็ก ที่มีประจุเท่ากับสอง ซึ่งไฮดรอกซิลเรดิคัลที่เกิดขึ้นมีความสามารถในการออกซิไดซ์สูงภายใต้สภาวะที่เป็นกรด ปฏิกิริยาดังกล่าวจึงถูกนำมาประยุกต์ใช้ทางด้านสิ่งแวดล้อมและอุตสาหกรรมเพื่อย่อยสลายสารมลพิษอินทรีย์ที่ปนเปื้อนในน้ำ บางชนิดได้ปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับPhoto-Fenton แสดงดังสมการที่ 2.8 - 2.9



จากสมการข้างต้น จะเห็นว่ามี  $Fe^{2+}$  และ  $Fe^{3+}$  อยู่ในระบบตลอดเวลา ซึ่งไอออนดังกล่าว เกิดจากหลายปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องต่อไปนี้ (สมการที่ 2.10 - 2.12) ดังนั้นหากในระบบยังมี  $H_2O_2$  อยู่จะสามารถเกิดไฮดรอกซิลเรดิคัลเกิดขึ้นในระบบได้ตลอดเวลา



### 2.3 มะเร็งเต้านม

เซลล์มะเร็ง คือเซลล์ของร่างกายมีความผิดปกติที่ DNA หรือสารพันธุกรรม<sup>[4]</sup> ส่งผลให้เซลล์มีการเจริญเติบโต มีการแบ่งตัวเพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์รวดเร็วและมากกว่าปกติ ดังนั้นจึงอาจทำให้เกิดก้อนเนื้อผิดปกติ และในที่สุดก็จะทำให้เกิดการตายของเซลล์ในก้อนเนื้อนั้นเนื่องจากขาดเลือดไปเลี้ยง เพราะการเจริญเติบโตของหลอดเลือด ถ้าเซลล์พวกนี้เกิดอยู่ในอวัยวะใดก็จะเรียกชื่อมะเร็งตามอวัยวะนั้นเช่น มะเร็งปอด มะเร็งสมอง มะเร็งเต้านม มะเร็งปากมดลูก มะเร็ง เม็ดเลือดขาว มะเร็งต่อมน้ำเหลือง และมะเร็งผิวหนัง เป็นต้น

เซลล์มะเร็งเต้านมเกิดจากความผิดปกติของเซลล์ที่อยู่ภายในท่อน้ำนมหรือต่อมน้ำนม เซลล์เหล่านี้มีการแบ่งตัวผิดปกติ ไม่สามารถควบคุมได้ มักแพร่กระจายไปตามทางเดินน้ำเหลือง ไปสู่อวัยวะที่ใกล้เคียงเช่น ต่อมน้ำเหลืองที่รักแร้ หรือแพร่กระจายไปสู่อวัยวะที่อยู่ห่างไกล เช่น กระดูก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปอด ตับ และสมอง เช่นเดียวกับมะเร็งชนิดอื่นๆ เมื่อเซลล์มะเร็งมีจำนวนมากขึ้นก็จะแย่งสารอาหาร และปล่อยสารบางอย่างที่เป็นอันตรายและทำลายอวัยวะต่างๆ จนอาจทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิตในที่สุด โดยมะเร็งเต้านมสามารถแบ่งออกเป็น 4 ระยะคือ

- 1) ก้อนมะเร็งมีขนาดเล็กกว่า 2 cm และยังไม่มีการแพร่กระจายไปยังต่อมน้ำเหลืองที่รักแร้
- 2) ก้อนมะเร็งมีขนาดระหว่าง 2 - 5 cm และ/หรือมีการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งไปยังต่อมน้ำเหลืองที่รักแร้ข้างเดียวกัน
- 3) ก้อนมะเร็งมีขนาดใหญ่กว่า 5 cm แพร่กระจายไปยังต่อมน้ำเหลืองที่รักแร้ข้างเดียวกันอย่างมาก จนทำให้ต่อมน้ำเหลืองเหล่านั้นมารวมติดกันเป็นก้อนใหญ่หรือติดแน่นกับอวัยวะข้างเคียง
- 4) ก้อนมะเร็งมีขนาดโตเท่าไรก็ได้ แต่พบว่ามีการแพร่กระจายไปยังส่วนอื่นของร่างกายที่อยู่ไกลออกไป เช่น กระดูก ปอด ตับ หรือสมอง เป็นต้น

ในการรักษามะเร็งเต้านมที่ได้ผลดีและเป็นที่ยอมรับกันในปัจจุบันมีอยู่ 5 วิธีได้แก่

- 1) การรักษาโดยการผ่าตัด คือวิธีการรักษาหลักสำหรับผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะเริ่มแรก ซึ่งมีประโยชน์ในการควบคุมโรคและสามารถนำชิ้นเนื้อที่ได้จากการผ่าตัดไปตรวจทาง พยาธิวิทยาทำให้ทราบระยะที่แท้จริงของโรค ช่วยวางแผนการรักษาที่เหมาะสมและสามารถพยากรณ์โรคได้แม่นยำมากขึ้น ขั้นตอนการผ่าตัดรักษามะเร็งเต้านม แบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ การผ่าตัดที่เต้านมและการผ่าตัดต่อมน้ำเหลืองที่รักแร้ นอกจากนี้ยังมีส่วนเพิ่มเติมซึ่งไม่ใช่การรักษาโดยตรงเช่นการเสริมสร้างเต้านมใหม่เพื่อเพิ่มคุณภาพชีวิตที่ดีแก่ผู้ป่วย
- 2) การตัดเต้านมออกเพียงบางส่วน คือการตัดก้อนมะเร็งและเนื้อของเต้านมปกติที่อยู่รอบโดยตัดห่างจากขอบของก้อนมะเร็งประมาณ 1-2 cm โดยมากจะยังคงเหลือหัวนมฐานหัวนมและส่วนใหญ่ของเนื้อเต้านม ส่วนมากมักเลือกใช้ในรายที่มะเร็งมีขนาดเล็กมีมะเร็งเพียงตำแหน่งเดียว หรือเต้านมมีขนาดใหญ่พอสมควร ภายหลังการผ่าตัดแล้วผู้ป่วยยังสามารถรักษารูปร่างของเต้านมได้ดี ผู้ป่วยทุกรายจะต้องได้รับการการฉายรังสีที่เต้านมร่วมด้วยเสมอ ถ้าเลือกผู้ป่วยได้อย่างเหมาะสมและผ่าตัดโดยแพทย์ที่ชำนาญ การตัดเต้านมออกเพียงบางส่วนจะได้ผลการรักษาดีเทียบเท่ากับการตัดเต้านมออกทั้งเต้า และรูปร่างของเต้านมยังคงสภาพสวยงามใกล้เคียงเดิม
- 3) การผ่าตัดเสริมสร้างเต้านม คือการผ่าตัดเพื่อนำเนื้อเยื่อที่บริเวณอื่นของร่างกายหรือใช้วัสดุที่ทำเลียนแบบเต้านม มาเพื่อเสริมหรือสร้างเต้านมใหม่ ช่วยให้ผู้ป่วยมีความรู้สึกมั่นใจมากขึ้น ลดความสูญเสีย ช่วยให้มีกำลังใจในการกลับไปทำงานและใช้ชีวิตตามปกติ
- 4) การรักษาด้วยยาเคมีบำบัด คือการใช้ยาที่มีคุณสมบัติในการทำลายหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง ยาดังกล่าวสามารถออกฤทธิ์ได้ทั่วร่างกาย ต่างจากการผ่าตัดที่ได้ผลเฉพาะบริเวณที่ผ่าตัดเท่านั้น ดังนั้นถ้าได้รับการรักษาด้วยวิธีนี้ จะมีโอกาสหายขาดมากขึ้นและมีชีวิตยืนยาวออกไป ยาเคมีบำบัดนั้นนอกจากจะทำลายเซลล์มะเร็งแล้ว ยังอาจมีผลต่อเซลล์ปกติของร่างกายที่มีการแบ่งตัวอย่างรวดเร็วเช่น ไขกระดูก เยื่อบุทางเดินอาหาร ผมและขน และระบบสืบพันธุ์ (รังไข่) เซลล์

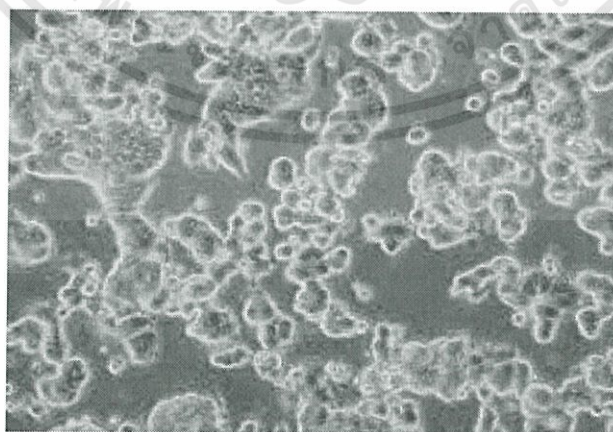
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังกล่าวบางส่วนจะถูกทำลายไปด้วยซึ่งทำให้เกิดผลข้างเคียง แต่เนื่องจากเซลล์ปกติมีคุณสมบัติที่สามารถสร้างเซลล์ใหม่ขึ้นมาทดแทนได้ ดังนั้นผลข้างเคียงที่เกิดขึ้นก็มักจะเกิดเพียงชั่วคราว เมื่อเสร็จสิ้นการรักษาแล้วทุกอย่างก็จะกลับมาใกล้เคียงปกติ

5) การรักษาโดยการฉายแสง (รังสีรักษา) คือการใช้เครื่องมือพิเศษที่สามารถปล่อยอนุภาครังสีที่มีพลังงานสูงเพื่อไปหยุดยั้งการเจริญเติบโตและการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็ง รังสีนี้จะไปทำลายทั้งเซลล์มะเร็งและเซลล์ปกติที่มีการแบ่งตัวอย่างรวดเร็ว แต่เนื่องจากเซลล์มะเร็งเป็นเซลล์ที่มีการแบ่งตัวเร็วมาก ดังนั้นจึงจะถูกทำลายมากกว่า และนอกจากนี้เซลล์ปกติยังมีคุณสมบัติที่จะสร้างเซลล์ใหม่ขึ้นมาทดแทนเซลล์ที่ถูกทำลายไปแล้วได้ จึงทำให้เนื้อเยื่อและอวัยวะต่าง ๆ ยังคงรูปร่างและทำงานได้ตามปกติ

## 2.4 เซลล์ไลน์

เซลล์ไลน์ (Cell Line) เป็นเซลล์เลี้ยงให้เจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนได้อย่างต่อเนื่องอย่างไม่จำกัด เซลล์ทุกเซลล์ในเซลล์ไลน์เดียวกันมีลักษณะเหมือนกันทุกประการ คือเป็นโคลน (Clone) ของกันและกัน เซลล์ไลน์ต่างชนิดกันจะมีลักษณะบางอย่างที่แตกต่างกัน เซลล์ไลน์มีหลายชนิดเช่น เซลล์ไลน์มะเร็งลำไส้ใหญ่ (Human Colon Adenocarcinoma : HT-29), เซลล์ไลน์มะเร็งช่องปาก (Human Oral Cavity Carcinoma : KB), เซลล์ไลน์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (Human Murine Leukemia: P-388) และ เซลล์ไลน์มะเร็งเต้านมของมนุษย์ (Human Breast Carcinoma Cell Line: MCF-7) เป็นต้น ในรูปที่ 2.5 แสดงเซลล์ไลน์มะเร็งเต้านมของมนุษย์ซึ่งเป็นเซลล์ที่ใช้ในโครงการงานพิเศษ เซลล์ไลน์มะเร็งเต้านมของมนุษย์เป็นเซลล์ที่ติดพื้นผิว (Monolayer Cell) มีลักษณะเป็นเซลล์ที่เป็นแผ่นชั้นเดียวบนภาชนะที่ใช้เลี้ยงและต้องอาศัยที่เกาะจึงจะสามารถเจริญเติบโตแบ่งเซลล์ไปชนกับเซลล์ข้างๆ ได้ เมื่อชนแล้วจะไม่มี การแบ่งตัวออกไปอีก



รูปที่ 2.5 เซลล์ไลน์มะเร็งเต้านมของมนุษย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.5 การลำเลียงของสารผ่านเซลล์

การรักษาคุณภาพของเซลล์เป็นหน้าที่สำคัญของเยื่อหุ้มเซลล์ โดยเยื่อหุ้มเซลล์จะควบคุมการผ่านเข้า-ออกของสารระหว่างสิ่งแวดล้อมภายนอกกับภายในเซลล์ ซึ่งการลำเลียงสารเข้า-ออกเซลล์มี 2 แบบคือ การลำเลียงสารแบบผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ และ การลำเลียงสารแบบไม่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์

### 2.5.1 การลำเลียงสารแบบผ่านเยื่อหุ้มเซลล์

การลำเลียงสารแบบผ่านเยื่อหุ้มเซลล์แบ่งออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ คือ

1. การลำเลียงแบบไม่ใช้พลังงาน เป็นการแพร่ของสารละลายจากสารละลายเข้มข้นน้อยไปยังความสารละลายความเข้มข้นมาก โดยไม่เสีย Adenosine Triphosphate (ATP) การลำเลียงแบบไม่ใช้พลังงานแบ่งออกเป็น 3 วิธี คือ

1) การแพร่ (Diffusion) คือ การเคลื่อนที่ของโมเลกุลหรือไอออนของสารใดๆ จากบริเวณที่มีความเข้มข้นมากไปยังบริเวณที่มีความเข้มข้นน้อย จนกว่าทุกบริเวณจะมีความเข้มข้นของสารนั้นเท่ากัน

2) ออสโมซิส (Osmosis) เป็นการเคลื่อนที่ของน้ำ (ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวทำละลาย) ผ่านเยื่อเลือกผ่าน (Semipermeable Membrane) จากบริเวณที่มีความเข้มข้นของสารละลายต่ำไปยังบริเวณที่มีความเข้มข้นของสารละลายสูง ซึ่งการออสโมซิสของน้ำทำให้ปริมาตรของเซลล์เปลี่ยนแปลงได้

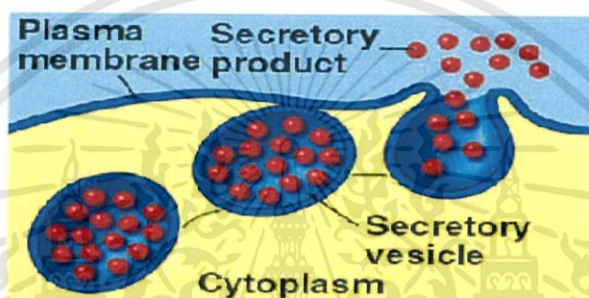
3) การแพร่แบบฟาซิลิเทต (Facilitated Diffusion) เป็นการเคลื่อนที่ของสารใดๆ จากบริเวณที่มีความเข้มข้นสูงไปยังบริเวณที่มีความเข้มข้นของสารต่ำ โดยมีโปรตีนเป็นตัวพา (Protein Carrier) สารนั้นเข้าสู่เซลล์โดยไม่ต้องใช้พลังงาน (ATP)

2. การลำเลียงแบบใช้พลังงาน แอกทีฟทรานสปอร์ต (Active Transport) เป็นการเคลื่อนที่ของโมเลกุลของสารใดๆ จากบริเวณที่มีความเข้มข้นต่ำไปยังบริเวณที่มีความเข้มข้นสูง โดยอาศัยโปรตีนเป็นตัวพา (Protein Carrier) และต้องใช้พลังงาน (ATP) จากเซลล์ เช่น การดูดซึมสารอาหารที่ลำไส้เล็ก การลำเลียงโซเดียม-โพแทสเซียม (Na-K) เข้าและออกจากเซลล์ประสาท (Sodium-Potassium Pump) การดูดแร่ธาตุเข้าสู่รากพืช เป็นต้น

## 2.5.2 การลำเลียงสารแบบไม่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์

เยื่อหุ้มเซลล์มีคุณสมบัติในการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง โดยการแยกตัวออกจากกันหรือรวมตัวกันได้ จึงทำให้เซลล์สามารถลำเลียงสารโมเลกุลใหญ่ผ่านเข้าออกเซลล์ได้ การลำเลียงในลักษณะดังกล่าวแบ่งได้ 2 ประเภท คือ เอกโซไซโทซิส (Exocytosis) และเอนโดไซโทซิส (Endocytosis)

1. เอกโซไซโทซิส เป็นการลำเลียงสารที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ออกจากเซลล์ โดยสารเหล่านั้นจะบรรจุอยู่ในเวสิเคิล (Vesicle) แล้วเวสิเคิลจะค่อยๆ เคลื่อนเข้ามาเชื่อมรวมกับเยื่อหุ้มเซลล์ จากนั้นสารที่บรรจุอยู่ในเวสิเคิลจะถูกปล่อยออกสู่นอกเซลล์ ดังแสดงในรูปที่ 2.6



รูปที่ 2.6 การลำเลียงสารออกจากเซลล์

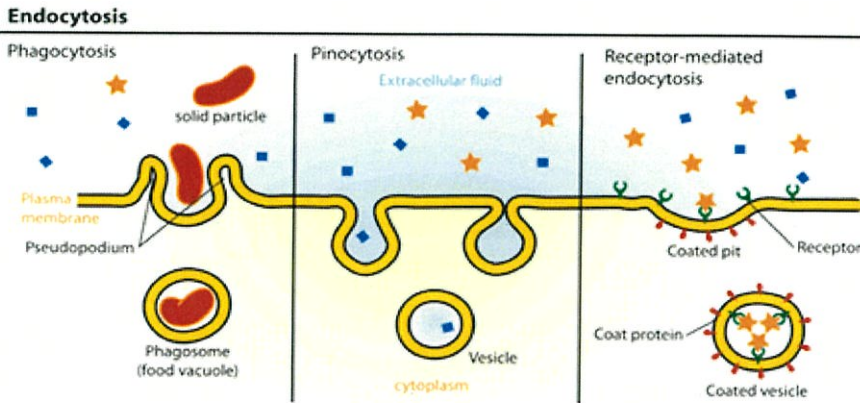
2. เอนโดไซโทซิส เป็นการลำเลียงสารขนาดใหญ่เข้าสู่เซลล์แบ่งออกเป็น 3 วิธี ได้แก่ ฟาโกไซโทซิส (Phagocytosis) พิโนไซโทซิส (Pinocytosis) และการนำสารเข้าสู่เซลล์โดยอาศัยตัวรับ (Receptor-Mediated Endocytosis)

1) ฟาโกไซโทซิส เป็นการลำเลียงที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่และมีสถานะเป็นของแข็งเข้าสู่เซลล์ โดยการยื่นส่วนของไซโทพลาซึมไปโอบล้อมสารนั้นๆ แล้วสร้างเป็นเวสิเคิลนำเข้าไปภายในเซลล์ดังแสดงในรูป 2.7

2) พิโนไซโทซิส เป็นการลำเลียงสารที่มีสถานะเป็นของเหลวเข้าสู่เซลล์ โดยการเว้าเข้าไปของไซโทพลาซึม จนเกิดเป็นเวสิเคิลดังแสดงในรูป 2.7

3) การนำสารเข้าสู่เซลล์โดยอาศัยตัวรับ เป็นการลำเลียงสารเข้าสู่เซลล์ที่เกิดขึ้นโดยมีโปรตีนที่อยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์เป็นตัวรับ (สาร) ซึ่งสารที่ถูกลำเลียงเข้าสู่เซลล์ด้วยวิธีนี้จะต้องมีความจำเพาะในการจับกับโปรตีนตัวรับ (Protein Receptor) ที่อยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์จึงจะสามารถนำเข้าสู่เซลล์ได้ดังแสดงในรูป 2.7

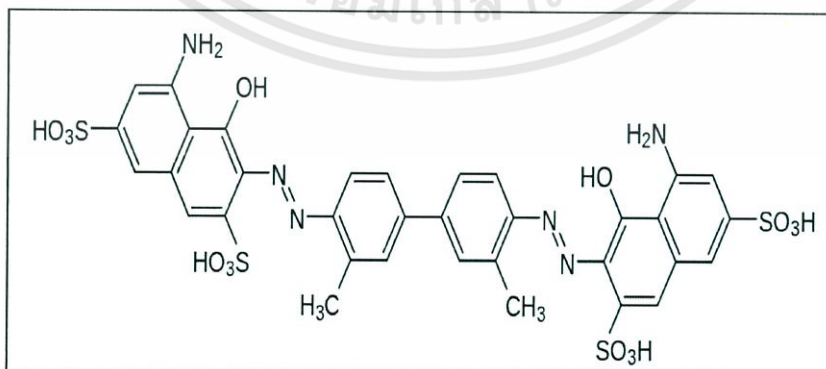
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.7 แสดงการลำเลียงสารเข้าเซลล์ในแบบต่างๆ

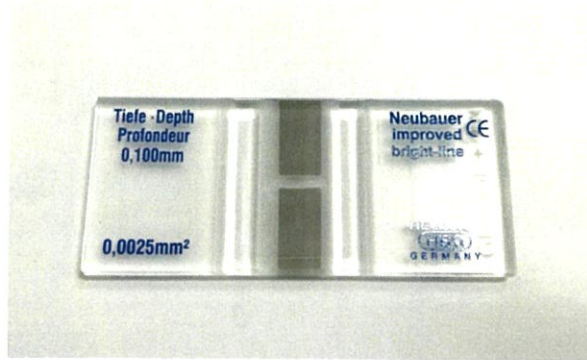
## 2.6 การนับจำนวนเซลล์

การนับจำนวนเซลล์มีความจำเป็นสำหรับการเพาะเลี้ยงเซลล์สัตว์<sup>[6]</sup> เพราะจะทำให้เราทราบจำนวนเซลล์ที่เพิ่มขึ้นหรือลดลงหลังจากการปลูกเซลล์ ที่สำคัญทำให้ทราบจำนวนเซลล์มีชีวิตและเซลล์ตายได้ เนื่องจากมีการใช้ประโยชน์จากเซลล์ไลน์ในการศึกษาด้านต่างๆ เช่น การศึกษาการเจริญเติบโตของเซลล์ การทดสอบความเป็นพิษ การปรับปรุงสูตรอาหารเพาะเลี้ยง การเพิ่มปริมาณไวรัส เป็นต้น จึงจำเป็นต้องทราบจำนวนเซลล์มีชีวิต ในที่นี้ใช้วิธีการย้อมสีเซลล์ด้วยสีทริปแฟนบลู (Trypan Blue) ซึ่งเป็นสีชนิด Dye Exclusion แสดงในรูป 2.8 เนื่องจากสีชนิดนี้ไม่สามารถผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าไปในเซลล์สิ่งมีชีวิต แต่ถ้าเยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์ที่ตายแล้ว หรือเซลล์ที่ได้รับสารพิษ เยื่อหุ้มเซลล์เหล่านี้จะขาดคุณสมบัติของการยอมให้สารบางอย่างผ่านเข้าออกจากเซลล์ ดังนั้น สีทริปแฟน บลู จึงสามารถเข้าไปในเซลล์ที่ตายและทำให้นิวเคลียสติดสีฟ้าหรือสีน้ำเงิน ต้องระมัดระวังในการใช้สีชนิดนี้เพราะเป็นสารก่อมะเร็ง จึงควรใส่ถุงมือป้องกันทุกครั้งที่ทำกรย้อมสีชนิดนี้ ส่วนอุปกรณ์สำหรับการนับเซลล์ ในที่นี้ใช้ฮีมาไซโตมิเตอร์ (Hemocytometer) แสดงในรูป 2.9



รูปที่ 2.8 สูตรโครงสร้างของสีทริปแฟนบลู

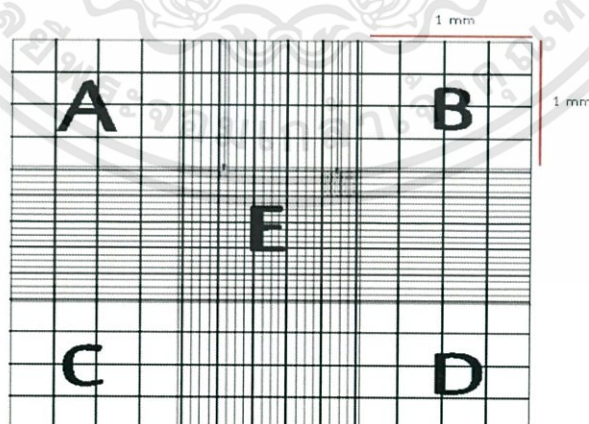
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.9 ฮีมาไซโตมิเตอร์

ฮีมาไซโตมิเตอร์ (Hemacytometer) ประกอบด้วย 2 Chamber โดยแต่ละ Chamber มีตาราง (Grid) แบ่งออกเป็น 9 ช่องใหญ่ (Primary Squares) แต่ละช่องมีความกว้าง 1 มิลลิเมตร ยาว 1 มิลลิเมตร และเมื่อปิดด้วยแผ่นปิดสไลด์ (Cover Glass) จะมีความลึก 0.1 มิลลิเมตร ดังนั้น แต่ละช่องจะมีปริมาตรเท่ากับ  $1/10 \times 1/10 \times 1/100 = 1/10,000$  ลูกบาศก์เซนติเมตร หรือ  $1/10^4$  มิลลิเมตร ซึ่งจากรูป 2.10 จะเห็นได้ว่าช่องใหญ่ (Primary Squares) มุมบนซ้ายขวา (A และ B) และล่างซ้ายขวา (C และ D) แต่ละช่องประกอบด้วย 16 ช่องเล็ก ส่วนช่องใหญ่ตรงกลาง (E) ประกอบไปด้วย 25 ช่องเล็ก

สำหรับโครงการพิเศษนี้ใช้เซลล์มะเร็งเต้านมของมนุษย์ในการนับจำนวนเซลล์ ซึ่งสามารถเพาะเลี้ยงแบบเกาะพื้นผิวของภาชนะเพาะเลี้ยง ถ้าต้องการนับจำนวนเซลล์ชนิดนี้ ต้องทำให้เซลล์หลุดออกจากพื้นผิว ภาชนะเลี้ยง ในที่นี้ใช้เอนไซม์ทริปซินย่อยสลายเซลล์ให้หลุดออกจากพื้นผิว จากนั้นหลุดการทำงานของทริปซินด้วยการเติมอาหารที่เสริมด้วยซีรัม

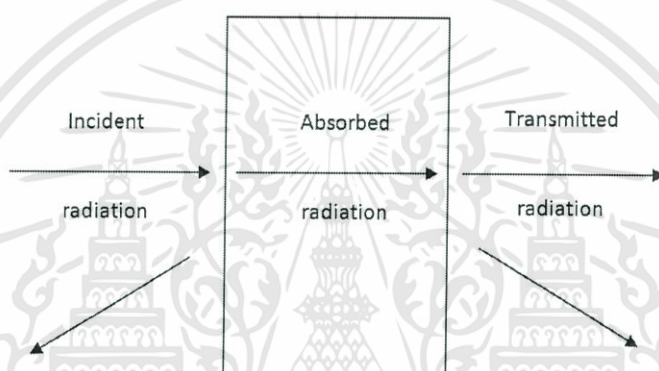


รูปที่ 2.10 แสดงตาราง 1 Chamber บนฮีมาไซโตมิเตอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.7 การวัดค่าการดูดกลืนแสง

การดูดกลืนแสงหรือรังสีที่อยู่ในช่วงอัลตราไวโอเล็ตและวิสิเบิล ซึ่งอยู่ในช่วงความยาวคลื่นประมาณ 100 – 700 นาโนเมตร ของสารเคมี สมบัติของสารดังกล่าวนี้ได้นำมาใช้เป็นวิธีวิเคราะห์ทั้งในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณอย่างกว้างขวาง เพราะวิธีนี้ให้ความถูกต้องแม่นยำและมีสภาพไว (Sensitivity) สูง โดยอาจทำการวิเคราะห์อยู่ในรูปของธาตุหรือโมเลกุลก็ได้ จำเป็นต้องใช้เทคนิคอื่นเข้าช่วยเพื่อให้เกิดความถูกต้องแม่นยำ เมื่อให้ลำแสงที่เคลื่อนที่อย่างต่อเนื่องกัน (Continuous beam of radiation) ผ่านเข้าไปในสารตัวอย่าง จะพบว่าแสงบางส่วนถูกดูดกลืน บางส่วนเกิดการสะท้อน บางส่วนกระเจิง และบางส่วนทะลุออกไปดังรูปที่ 2.11



รูปที่ 2.11 แสดงลำแสงที่เคลื่อนที่ผ่านสารตัวอย่าง

## 2.8 เครื่องมือที่วัดการดูดกลืนแสง

เครื่องมือที่วัดการดูดกลืนแสงของสารในช่วงความยาวคลื่นอัลตราไวโอเล็ต<sup>[7]</sup> และช่วงคลื่นแสงที่มองเห็นได้ เรียกว่ายูวี-วิสิเบิล สเปกโตรมิเตอร์ (UV-Vis spectrometer) ใช้แสงที่มีความยาวคลื่นที่ 100 - 700 nm สารที่สามารถดูดกลืนรังสีได้ ได้แก่แก๊วสารอินทรีย์ (Organic compound), สารประกอบเชิงซ้อน (Complex compound), สารประกอบอนินทรีย์ (Inorganic compound) โดยองค์ประกอบของเครื่องสเปกโตรมิเตอร์มีองค์ประกอบที่สำคัญแบ่งได้ออกเป็น 4 ส่วนคือ

1) แหล่งกำเนิดแสง (Source) ที่ให้ความยาวคลื่นที่ต้องการออกมาอย่างต่อเนื่อง และคงที่ รวมทั้งมีความเข้มแสงที่มากพอ หลอดกำเนิดรังสีมีหลายชนิดตามความยาวคลื่นรังสีที่เปล่งออกมา เช่น ช่วง UV จะใช้ Hydrogen lamp หรือ Deuterium lamp ให้ความยาวคลื่นอยู่ในย่าน 160-380 nm และช่วง Visible ใช้หลอด Tungsten/halogen ให้ความยาวคลื่นในช่วง 240-2,500 nm

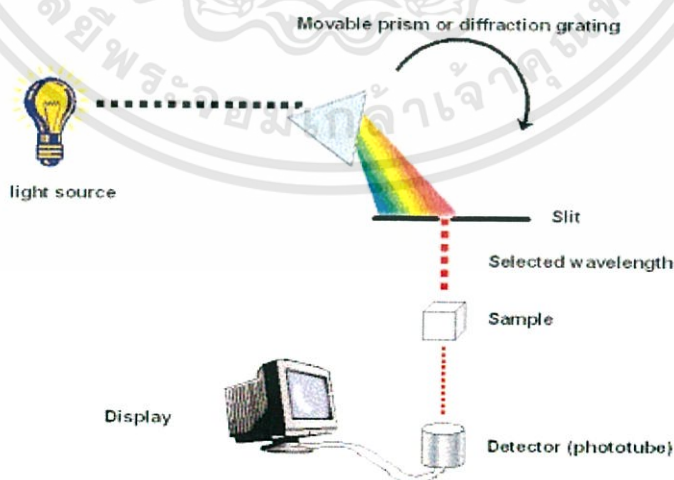
2) Cuvettes เซลล์ที่ใช้บรรจุสารละลายตัวอย่าง ที่ใช้กันทั่วไปได้แก่เซลล์ที่ทำด้วย แก้วจะใช้ได้เฉพาะช่วงวิสิเบิล เพราะแก้วจะดูดกลืนรังสีในช่วงยูวีได้ และเซลล์ที่ทำด้วย ซิลิกา และ ควอร์ตซ์ ซึ่งใช้ได้ทั้งช่วงยูวีและวิสิเบิล

3) Wavelength Selector เป็นส่วนที่ใช้ควบคุมแสงโดยจะทำให้แสงที่ออกมาจาก ต้นกำเนิดแสง ซึ่งเป็นแสงที่มีหลายๆ ความยาวคลื่นให้เป็นแถบแสงในช่วงแคบๆ หรือ เป็นความยาว คลื่นเดี่ยว

4) Detector ทำหน้าที่ในการวัดความเข้มของรังสีที่ถูกดูดกลืนโดยการแปลง พลังงานคลื่นรังสีเป็นพลังงานไฟฟ้า ได้แก่ Photomultiplier tube และ Silicon diode detector

เครื่องสเปกโตรมิเตอร์แบ่งออกเป็น 3 ประเภท คือสำหรับ เครื่องสเปกโตรมิเตอร์แบบ ลำแสงเดี่ยว (Single Beam Spectrometer), เครื่องสเปกโตรมิเตอร์แบบลำแสงคู่ (Double Beam Spectrometer) และ สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่มีไดโอดอาร์เรย์เป็นตัวตรวจจับสัญญาณ (Spectrophotometer Diode Array Detector)

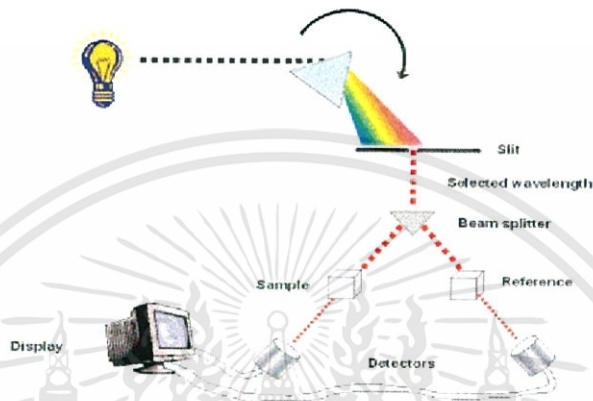
1) เครื่องสเปกโตรมิเตอร์แบบลำแสงเดี่ยว มีหลักการทำงานคือ เมื่อแสงออกจาก แหล่งกำเนิดแสงแล้วจะผ่านสารตัวอย่างและตัวเลือกความยาวคลื่นตามลำดับ แล้วจึงเข้าสู่ตัว ตรวจจับสัญญาณ ตลอดเส้นทางของลำแสงนี้มีลำแสงเดี่ยว จึงเรียกสเปกโตรมิเตอร์ประเภทนี้ว่าแบบ ลำแสงเดี่ยว เนื่องจากสเปกโตรมิเตอร์ประเภทนี้ใช้ลำแสงเพียงลำเดียวผ่านจากตัวอย่างสารละลาย ไปสู่ตัวเลือกความยาวคลื่นและเข้าสู่ตัวตรวจจับสัญญาณเลย ดังนั้นการวัดจึงต้องวัด 2 ครั้ง ดังนี้ ครั้ง แรกเซลล์บรรจุแบลงค์ (blank) ซึ่งเป็นตัวทำละลายของตัวอย่างที่เราต้องการวัด เมื่อลำแสงผ่านเซลล์ ปรับเครื่องให้อยู่ในตำแหน่ง “ศูนย์” (Set Zero) ส่วนครั้งหลังบรรจุสารละลายที่ต้องการวัด (Sample) แล้วจึงให้ลำแสงผ่านเซลล์ ความแตกต่างระหว่างการดูดกลืนแสงของทั้ง 2 ครั้งซึ่งจะ ปรากฏบนอุปกรณ์อ่านผลซึ่งแสดงดังรูป 2.12



รูปที่ 2.12 หลักการทำงานของเครื่องสเปกโตรมิเตอร์แบบลำแสงเดี่ยว

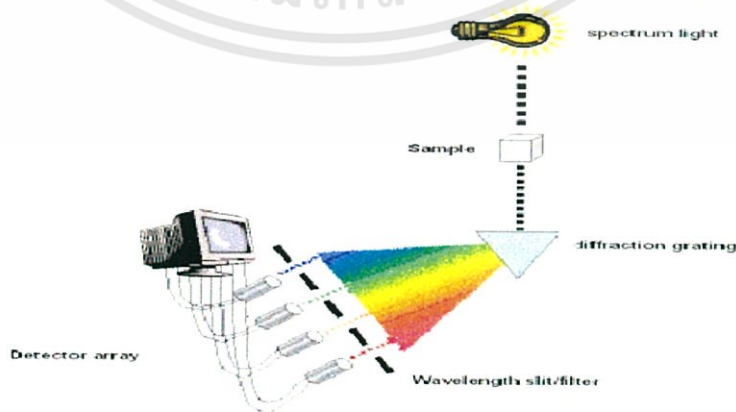
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) เครื่องสเปกโตรมิเตอร์แบบลำแสงคู่ มีหลักการการทำงานแสดงดังรูปที่ 2.13 เมื่อลำแสงจากแหล่งกำเนิดแสงออกจากช่องแสงออก แล้วลำแสงจะไปสู่อุปกรณ์ตัดลำแสง ซึ่งจะทำหน้าที่สะท้อนลำแสงไปผ่านสารตัวอย่าง ในขณะที่ต่อมาจะสะท้อนลำแสงไปผ่านสารอ้างอิง โดยที่ลำแสงทั้งสองจะมีความเข้มแสงเท่ากันก่อนที่จะผ่านสารตัวอย่างหรือสารอ้างอิง เมื่อลำแสงทั้งสองนี้ไปตกกระทบบนตัวตรวจจับสัญญาณ ความแตกต่างของความเข้มแสงหลังจากผ่านสารตัวอย่างหรือสารอ้างอิงจะกลายเป็นค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง



รูปที่ 2.13 หลักการทำงานของเครื่องสเปกโตรมิเตอร์แบบลำแสงคู่

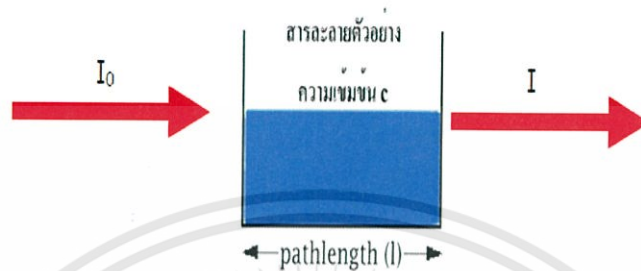
3) เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่มีไดโอดอาร์เรย์เป็นตัวตรวจจับสัญญาณ มีหลักการการทำงานแสดงดังรูปที่ 2.14 การดูดกลืนของแสงจะเป็นเช่นเดียวกับสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ทั่วไป เพียงแต่การเก็บข้อมูลไม่ใช่การเก็บเพียง 1 หรือ 2 ความยาวคลื่นเท่านั้น แต่สามารถเก็บข้อมูลได้เป็นช่วงของความยาวคลื่น ที่ผู้วิเคราะห์สามารถเลือกได้ โดยใช้เวลาเพียงนิดเดียว เนื่องจากสามารถวัดทุก ความยาวคลื่นได้ในเวลาเดียวกัน เหมาะสำหรับการเก็บข้อมูลที่เป็นสเปกตรัม หรือต้องการติดตามการเปลี่ยนแปลงการดูดกลืนของสารที่หลายความยาวคลื่น



รูปที่ 2.14 หลักการทำงานของเครื่องสเปกโตรมิเตอร์ที่มีไดโอดอาร์เรย์

## 2.9 กฎของเบียร์และแลมเบิร์ต (Beer-Lambert Law)

การวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างเราสามารถทำได้โดยให้ลำแสงผ่านเข้าไปในตัวอย่างเป็นต้น (Incident light:  $I_0$ ) แล้ววัดปริมาณแสงที่เหลือผ่านออกมา ( $I$ ) โดยเทียบกับแสงที่ผ่านออกมาเมื่อไม่มีสารตัวอย่าง ดังรูปที่ 2.15



รูปที่ 2.15 ลำแสงที่ผ่านเข้าออกสารละลายความเข้มข้น  $c$  เป็นระยะทาง  $l$

จากรูปที่ 2.15 Transmittance ( $T$ ) เป็นสัดส่วนปริมาณแสงที่ผ่านออกมา ( $I$ ) ต่อปริมาณแสงที่ผ่านเข้าไปในตัวอย่างเป็นต้น ( $I_0$ ) เขียนสมการได้ว่า

$$T = \frac{I}{I_0} \quad (2.13)$$

Absorbance ( $A$ ) นิยามสมการได้เป็น

$$A = \log \frac{I_0}{I} = -\log T \quad (2.14)$$

โดยทั่วไปจะแสดงค่า Transmittance เป็นเปอร์เซ็นต์ (%T) ดังนี้

$$\%T = 100 \frac{I}{I_0} \quad (2.15)$$

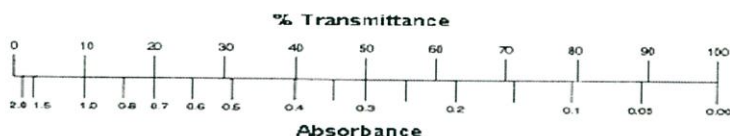
$$\log \%T = \log 100 \frac{I}{I_0} \quad (2.16)$$

$$\log \%T = 2 + \log \frac{I}{I_0} \quad (2.17)$$

$$A = 2 - \log \%T \quad (2.18)$$

ดังนั้น ค่า  $T$  มีค่าอยู่ในช่วง 0-1 และ %T มีค่าตั้งแต่ 0-100 ส่วน  $A=0$  เมื่อแสงที่ผ่านเข้าไปในตัวอย่างไม่ถูกดูดกลืนไว้ และผ่านออกมา 100%,  $A=1$  เมื่อแสงผ่านออกมาเพียง 10% และ  $A=2$  ถ้าแสงผ่านออกมาน้อยมากเพียง 1% ดังรูป 2.16

Transmittance ( $I/I_0$ )	%T ( $\log I/I_0$ )	$\log \%T$	Absorbance ( $-\log T$ )
1	100	2	0
0.1	10	1	1
0.01	1	0	2
0.001	0.1	-1	3



รูปที่ 2.16 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนกับ %Transmittance

## 2.10 ความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสารละลาย

ค่าการดูดกลืนแสงของสารมีความสำคัญอย่างยิ่งในเชิงปริมาณวิเคราะห์<sup>[7]</sup> เนื่องจากค่าการดูดกลืนจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นแสดงในรูปที่ 2.17 ตามกฎของเบียร์-แลมเบิร์ต (Beer-Lambert law) ดังสมการ

$$A = \epsilon cl \quad (2.19)$$

เมื่อ  $A$  = ค่าการดูดกลืนแสงของสาร (Absorbance)

$\epsilon$  = เป็นสมบัติจำเพาะของสารที่ดูดกลืนและวัดที่ความยาวค่าหนึ่งเรียกว่า Molar absorptivity ( $L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )

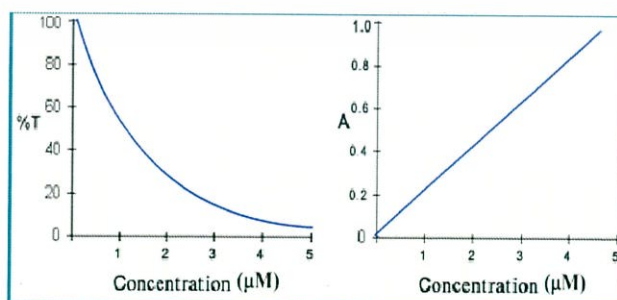
$l$  = ระยะทางที่แสงผ่านตัวอย่าง หรือความกว้างของที่ใส่สารตัวอย่าง (cm)

$C$  = ความเข้มข้นเป็น โมล/ลิตร หรือโมลาร์ (M)

ถ้าความเข้มข้นของสารอยู่ในหน่วยอื่นจะเขียนสมการเป็น

$$A = acl \quad (2.20)$$

โดยที่  $a$  = absorptivity ซึ่งเป็นค่าคงที่ขึ้นกับชนิดของสารและความยาวคลื่น



รูปที่ 2.17 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับ %T และ Absorbance

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.11 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ชลดา อีรการณวงศ์ (2555) ได้ทำการศึกษาวิจัยเรื่อง ไททาเนียมไดออกไซด์: วัสดุฆ่าเชื้อแบคทีเรีย<sup>[2]</sup> ซึ่งงานวิจัยนี้ได้อธิบายถึงการนำวัสดุที่มีขนาดอนุภาคในระดับนาโนเมตรไปฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ประสบความสำเร็จ ในบรรดาออกไซด์ของโลหะต่างๆ พบว่าไททาเนียมไดออกไซด์เป็นสารที่น่าสนใจ เนื่องจากมีสมบัติเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียเมื่อใช้วัสดุนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ขึ้นอยู่กับขนาดอนุภาค ลักษณะพื้นผิว โครงสร้างผลึก องค์ประกอบของเฟส ความเข้มข้น และการเจือด้วยไอออนของโลหะ โดยทั่วไปพบว่ากลไกการฆ่าเชื้อแบคทีเรียเกี่ยวข้องกับไฮดรอกซิลเรดิคัลทำปฏิกิริยากับหมู่อะมิโนของโมเลกุลของกลุ่มจุลินทรีย์เป็นผลให้เซลล์เมมเบรนถูกทำลายและเป็นสาเหตุให้เซลล์ตายในที่สุด

เสาวลักษณ์ บุญยอด (2553) ได้ทำการศึกษาวิจัยเรื่อง ปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลซิสและพฤติกรรมของการฆ่าเชื้อแบคทีเรียของฟิล์มบางไททาเนียมไดออกไซด์บนพอลิเมอร์<sup>[3]</sup> ในงานวิจัยนี้ได้มีการศึกษาการสังเคราะห์ไททาเนียมไดออกไซด์และการเติบโตไททาเนียมไดออกไซด์ด้วยไนโตรเจนในสัดส่วน 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ด้วยกระบวนการโซล - เจล ที่อุณหภูมิต่ำโดยใช้ไมโครเวฟ และเคลือบบนพอลิเมอร์ด้วยกระบวนการจุ่มเคลือบ โดยงานวิจัยนี้มุ่งศึกษาผลปริมาณสารเติบโต (ไนโตรเจน) ต่อประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลซิส รวมถึงศักยภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียของฟิล์มไททาเนียมไดออกไซด์ ซึ่งผลการวิเคราะห์เฟสของฟิล์มไททาเนียมไดออกไซด์ก่อนนำไปใช้งานพบว่าเกิดเฟสหลัก คือ เฟสอะนาเทส โดยมีขนาดผลึกอยู่ในช่วง 8.3-17.2 นาโนเมตร จากการทดสอบปฏิกิริยาการย่อยสลายสีของเมทิลีนบลูโดยใช้ฟิล์มภายใต้แสงยูวีและแสงฟลูออเรสเซนซ์ พบว่าฟิล์มที่มีการเติบโตไนโตรเจนสามารถทำปฏิกิริยาย่อยสลายสีของเมทิลีนบลูได้ดีกว่าฟิล์มที่ไม่ได้เติบโตด้วยไนโตรเจน นอกจากนี้การทดสอบฆ่าเชื้อ E.coli ของฟิล์มไททาเนียมไดออกไซด์, ฟิล์ม 5%molN/TiO<sub>2</sub> และฟิล์ม 10%molN/TiO<sub>2</sub> พบว่าฟิล์มทั้ง 3 ประเภทสามารถฆ่าเชื้อ E.coli ได้ 100% ในเวลา 120 นาที ภายใต้แสงยูวี ส่วนในการทดสอบการฆ่าเชื้อภายใต้แสงฟลูออเรสเซนซ์ พบว่าฟิล์มที่เติบโตไนโตรเจนสามารถฆ่าเชื้อ E.coli ได้ดีกว่าฟิล์มที่ไม่ได้เติบโตไนโตรเจน โดยฟิล์ม 10%molN/TiO<sub>2</sub> สามารถฆ่าเชื้อ E.coli ได้ 78% ส่วนฟิล์ม 10%molN/TiO<sub>2</sub> สามารถฆ่าเชื้อ E.coli ได้ 71% และ 60% ตามลำดับ

ชนิษฐา หทัยสมิทธิ์ (2551) ได้ทำการศึกษาวิจัยเรื่อง การศึกษาการฆ่าเชื้อแบคทีเรียโดยการฉายแสงบนฟิล์มไททาเนียมไดออกไซด์โครงสร้างระดับนาโน<sup>[8]</sup> งานวิจัยนี้ได้ศึกษาถึงประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคในมนุษย์ ได้แก่ เชื้อจุลินทรีย์ทั่วไป และ Escherichia coli (E.coli) โดยการฉายแสง อัลตราไวโอเล็ต A ที่ความยาวคลื่นแสง 365 nm ลงบนแบคทีเรียที่กระจายตัวบนกระจกที่ไม่เคลือบและเคลือบฟิล์มไททาเนียมไดออกไซด์ (TiO<sub>2</sub>) ซึ่งเคลือบโดยเทคนิครีแอคทีฟดีซีแมกนีตรอนสปัตเตอริง โดยฟิล์มมีความหนาประมาณ 300 nm ขนาดเกรนประมาณ 40 nm และมีความหยาบผิวประมาณ 4 nm แสงที่ฉายมีความเข้มต่างกันที่ 0.5, 1.5 และ 11 mW/cm<sup>2</sup>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าที่ระยะเวลาฉายแสง 30 นาที เปอร์เซ็นต์การฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ทั่วไป และ E.coli มีค่าเท่ากับ 8.23-19.95% และ 10.18-14.85% ตามลำดับ ซึ่งเมื่อแสงมีความเข้มมากขึ้นก็มีความสามารถในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียมากขึ้น ผลลัพธ์ที่ได้จากการทดลองแสดงให้เห็นว่ากระจกที่เคลือบฟิล์ม TiO<sub>2</sub> มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคต่อมนุษย์มากกว่ากระจกทั่วไป ซึ่งเหมาะที่จะนำไปใช้กับห้องปลอดเชื้อ ใช้กับระบบจัดการน้ำ และพัฒนาสำหรับการกำจัดเชื้อในงานด้านสิ่งแวดล้อม และด้านการแพทย์ต่อไป

Tzu - Ying Lai, Wen - Chien Lee (2552) ได้ทำการศึกษาวิจัยเรื่อง การทำลายเซลล์มะเร็งด้วยอนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ร่วมกับกรดโพลีลิกโดยวิธีการกระตุ้นทางแสง<sup>[9]</sup> ซึ่งผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่า ไททาเนียมไดออกไซด์ที่มีการเติมกรดโพลีลิกอย่างเหมาะสมในอัตราส่วนโดยมวลของกรดโพลีลิกต่อไททาเนียมไดออกไซด์เท่ากับ 0.2 ทำให้ได้อนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ซึ่งมีความเป็นพิษสูงภายใต้การได้รับการกระตุ้นด้วยแสง ปฏิริยาโฟโตคะตะไลซิสของอนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์นี้ จะเป็นตัวไปทำลายองค์ประกอบของเซลล์อันได้แก่ เยื่อหุ้มพลาสมา (Plasma Membrane) ส่งผลต่อการกินเซลล์และทำให้เซลล์ตาย

Min-Chiao Tsai, Tsung-Lin Tsai, Dar-Bin Shieh, Hsin-Tien Chiu, and Chi-Young Lee (2552) ได้ทำการศึกษาวิจัยเรื่อง การตรวจเซลล์มะเร็งชนิด HER2 จากการกระเจิงแสงของอนุภาคทรงกลมไททาเนียมไดออกไซด์<sup>[10]</sup> ซึ่งงานวิจัยนี้ได้อธิบายถึงวิธีการถ่ายภาพทางชีวภาพโดยอาศัยพื้นฐานของการกระเจิงแบบ Mie ของอนุภาคทรงกลมไททาเนียมไดออกไซด์ ขนาดนาโนเมตร และไมโครเมตร โดยจะเตรียมอนุภาคทรงกลมไททาเนียมไดออกไซด์ได้จากปฏิกิริยาระหว่าง Titanium Isopropoxide กับกรดคาร์บอกซิลิกของอนุภาคทรงกลมไททาเนียมไดออกไซด์ได้มีการปรับความสม่ำเสมอของอนุภาคโดยการปรับปริมาณน้ำที่ใช้ โดยปริมาณน้ำจะมีความสัมพันธ์แบบผกผันกับขนาดและการกระจายขนาดของอนุภาคทรงกลม ถ้าปริมาณน้ำที่นำมาใช้มีปริมาณมาก อนุภาคทรงกลมไททาเนียมไดออกไซด์จะมีขนาดเล็กและมีการกระจายขนาดที่แคบ ซึ่งอนุภาคทรงกลมไททาเนียมไดออกไซด์จะมีการกระจายขนาดสม่ำเสมอมากที่สุดเมื่อมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1  $\mu\text{m}$

เนื่องจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้องได้มีการศึกษา การนำไททาเนียมไดออกไซด์มาใช้ในการฆ่าเชื้อไวรัสและแบคทีเรีย แต่ยังไม่มียานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับการนำไททาเนียมไดออกไซด์มาใช้ในการทำลายเซลล์มะเร็ง ในโครงการพิเศษนี้จึงได้มีศึกษาผลของอนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ต่อความเป็นพิษในเซลล์มะเร็งเต้านม เพื่อเป็นทางเลือกใหม่ในการบำบัดรักษาผู้ป่วยโรคมะเร็งต่อไป

## บทที่ 3

# วิธีการดำเนินงานวิจัย

### 3.1 สารเคมี และอุปกรณ์เครื่องมือ

#### 3.1.1 สารเคมี

- TiO<sub>2</sub> nanoparticles  $\phi = 90 \pm 10$  nm (Sigma – Aldrich)
- FeCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O (Sigma – Aldrich)
- Ferrozine (Sigma – Aldrich)
- Typsin
- Tripen Blue
- PBS
- น้ำ DI
- Ethanol 75%
- MCF-7

#### 3.1.2 เครื่องมือ

- เครื่อง UV-Vis Spectrometer (Avaspec – EDU)
- ตู้ UV-Chamber (MODEL CX-21)
- เครื่องชั่งสาร
- กล้องจุลทรรศน์
- Hemacytometer
- Micropipette ขนาด 10 - 100  $\mu$ L
- Micropipette ขนาด 100 - 1000  $\mu$ L

#### 3.1.3 เครื่องแก้ว

ตารางที่ 3.1 อุปกรณ์ประเภทเครื่องแก้ว

อุปกรณ์ประเภทเครื่องแก้ว	จำนวน
1. บีกเกอร์ ขนาด 50 mL	12 ใบ
2. ขวดชมพู ขนาด 50 mL	2 ใบ
3. ปิเปต ขนาด 10 mL	1 ใบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.1.4 วัสดุ

ตารางที่ 3.2 อุปกรณ์ประเภทวัสดุ

อุปกรณ์ประเภทวัสดุ	จำนวน
1. คิวเวท (Cuvette)	24 อัน
2. แท่นวางคิวเวท (Cuvette Rack)	2 อัน
3. Pipette Tip	1 กล่อง
4. Pipette pump	1 อัน
5. แท่งแก้วคนสาร	1 อัน
6. ซ้อนตักสาร	1 อัน
7. ครอบกฉีดย้ำ	1 อัน
8. ครอบกฉีดย้ำ Ethanol 75%	1 อัน
9. ขวดใส่น้ำ DI	1 อัน
10. แผ่นพาราฟินด์	1 กล่อง
11. กระดาษทิชชู (Kim Tech)	1 กล่อง
12. กระดาษกรองสาร	1 กล่อง
13. หน้ากากปิดจุ่มก	1 กล่อง
14. ถุงมือ	1 กล่อง

### 3.2 วิธีการทดลอง

#### 3.2.1 การเตรียมสารละลายไททาเนียมไดออกไซด์และการวัดค่าการดูดกลืน

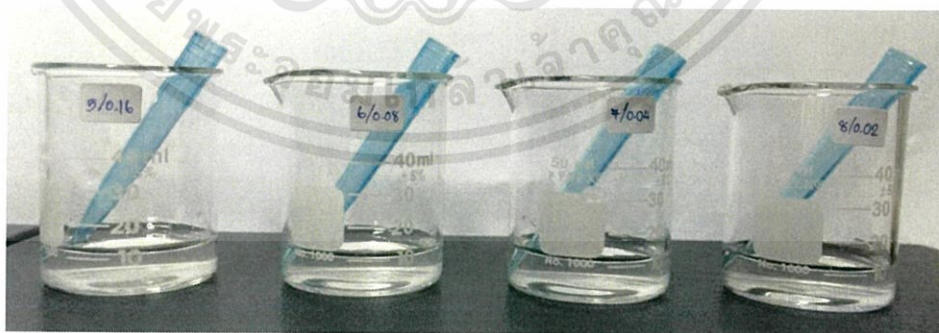
- นำสารไททาเนียมไดออกไซด์มาชั่ง ในปริมาณ 0.0256 g
- นำสารไททาเนียมไดออกไซด์ที่ชั่งได้ ปริมาณ 0.0256 g มาผสมกับน้ำ DI ปริมาณ 10 mL ลงในบีกเกอร์ใบที่ 1
- บีกเกอร์ใบที่ 1 จะได้ความเข้มข้นของสารละลายอนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ เท่ากับ 2.56 mg/mL
- ใช้ Micropipette ขนาด 100 - 1000  $\mu$ L ดูดสารละลายอนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ที่ความเข้มข้น 2.56 mg/mL จากบีกเกอร์ใบที่ 1 ปริมาณ 5 mL ลงในบีกเกอร์ใบที่ 2 ที่มีน้ำ DI อยู่ปริมาณ 5 mL จากนั้นคนสารละลายให้เข้ากัน
- บีกเกอร์ใบที่ 2 จะได้ความเข้มข้นของสารละลายอนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ เท่ากับ 1.28 mg/mL

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 6) จากนั้นใช้ Micropipette ขนาด 100 - 1000  $\mu\text{L}$  ตูดสารละลายอนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ที่ความเข้มข้น 1.28  $\text{mg/mL}$  จากบีกเกอร์ใบที่ 2 ปริมาณ 5 ml ลงในบีกเกอร์ใบที่ 3 ที่มีน้ำ DI อยู่ปริมาณ 5 mL คนสารละลายให้เข้ากัน
- 7) บีกเกอร์ใบที่ 3 จะได้ความเข้มข้นของสารละลายอนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์เท่ากับ 0.64  $\text{mg/mL}$
- 8) จากนั้นทำการ Dilute สารละลายอนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์จากบีกเกอร์ใบที่ 3 ลงในบีกเกอร์ใบที่ 4, 5, 6, 7,...,12 ตามลำดับ
- 9) ได้ความเข้มข้นของสารละลายอนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์หลังจากการ Dilute แล้วมีค่าเท่ากับ 0.32, 0.16, 0.08, 0.04, 0.02, 0.01, 0.005, 0.0025, 0  $\text{mg/mL}$  ตามลำดับ ดังรูปที่ 3.1

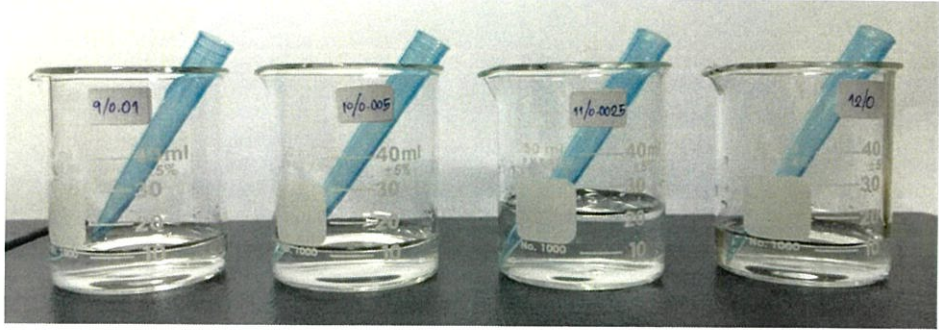


รูปที่ 3.1 ความเข้มข้นของสารละลายอนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์หลังจากการ Dilute แล้วมีค่าเท่ากับ 2.56, 1.28, 0.64 และ 0.32  $\text{mg/mL}$  ตามลำดับ



รูปที่ 3.2 ความเข้มข้นของสารละลายอนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์หลังจากการ Dilute แล้วมีค่าเท่ากับ 0.16, 0.08, 0.04 และ 0.02  $\text{mg/mL}$  ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.3 ความเข้มข้นของสารละลายอนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์หลังจากการ Dilute แล้วมีค่าเท่ากับ 0.01, 0.005, 0.0025 และ 0 mg/mL ตามลำดับ

- 10) ตูตสารละลายอนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์จากบีกเกอร์ ทั้ง 12 ใบ ในปริมาณ 1 mL ลงในคิวเวทจำนวน 12 อัน



รูปที่ 3.4 แสดงอนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ที่ความเข้มข้น 2.56, 1.28, 0.64, 0.32, 0.16, 0.08, 0.04, 0.02, 0.01, 0.005, 0.0025 และ 0 mg/mL เรียงจากภาพซ้ายไปขวา

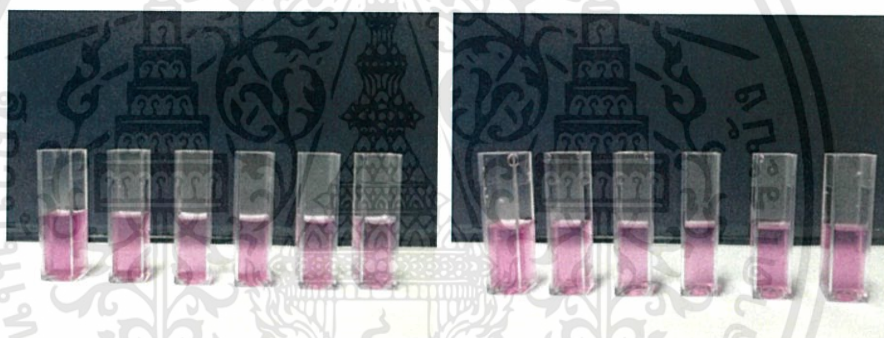
- 11) วัดค่าการดูดกลืนจากเครื่อง UV-Vis Spectrometer

### 3.2.2 การหา Calibration Curve เพื่อตรวจหาความสามารถของไททาเนียมไดออกไซด์ในการจับกับ $Fe^{2+}$

- 1) นำสาร  $FeCl_2 \cdot 4H_2O$  มาชั่งในปริมาณ 0.0019 g
- 2) นำสาร  $FeCl_2 \cdot 4H_2O$  ปริมาณ 0.0019 g ผสมกับน้ำ DI ปริมาณ 5 mL ลงในขวดชมพู
- 3) ทำการคนสารละลายให้เข้ากัน จะได้สารละลาย 2 mM จากนั้นปิดปากขวดชมพูด้วยแผ่นพาราฟินด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 4) นำสาร Ferrozine มาชั่งในปริมาณ 0.0123 g
- 5) นำสาร Ferrozine ปริมาณ 0.0123 g ผสมกับน้ำ DI ปริมาณ 5 mL ลงในขวดชมพู
- 6) ทำการคนสารละลายให้เข้ากัน จะได้สารละลาย 5 mM จากนั้นปิดปากขวดชมพูด้วยแผ่นพาราฟินด์
- 7) ใช้ Micropipette ขนาด 100 - 1000  $\mu\text{L}$  ตูด น้ำ DI ปริมาณ 900  $\mu\text{L}$  เติมลงในคิวเวทข้างต้นจำนวน 12 คิวเวท
- 8) ใช้ Micropipette ขนาด 10 - 100  $\mu\text{L}$  ตูด  $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  ปริมาณ 33  $\mu\text{L}$  เติมลงในคิวเวทข้างต้นจำนวน 12 คิวเวท เขย่าเป็นเวลา 2 นาที
- 9) ใช้ Micropipette ขนาด 10 - 100  $\mu\text{L}$  ตูด Ferrozine ปริมาณ 67  $\mu\text{L}$  เติมลงในคิวเวทข้างต้นจำนวน 12 คิวเวท เขย่าเป็นเวลา 2 นาที
- 10) จากนั้นพักทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที แล้วเขย่าอีกเป็นเวลา 2 นาที ก่อนที่จะนำมาวัดค่าการดูดกลืนด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrometer
- 11) วัดค่าการดูดกลืนจากเครื่อง UV-Vis Spectrometer

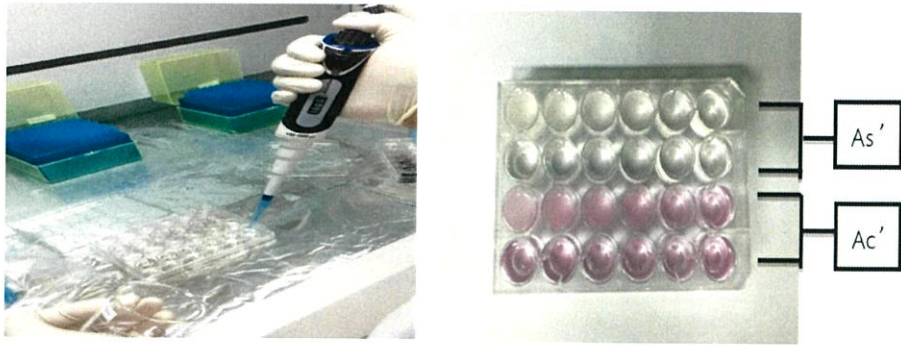


รูปที่ 3.5 แสดงอนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ที่ผสมกับ  $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  ในความเข้มข้น 2.56, 1.28, 0.64, 0.32, 0.16, 0.08, 0.04, 0.02, 0.01, 0.005, 0.0025 และ 0 mg/mL ตามลำดับเรียงจากซ้ายไปขวา

### 3.2.3 การเติมไททาเนียมไดออกไซด์ลงใน MCF-7

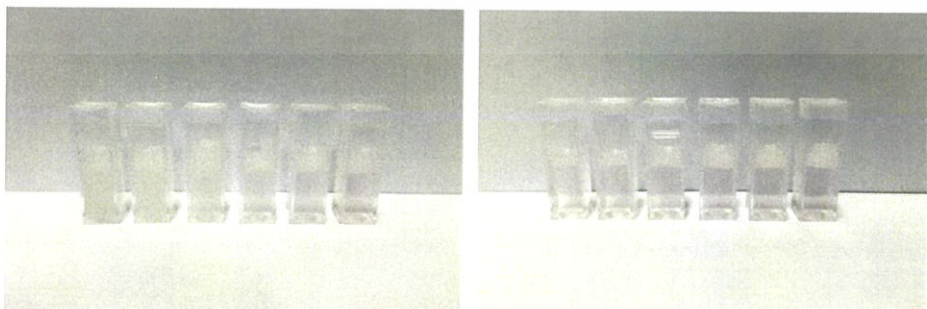
- 1) นำเซลล์ MCF-7 มาเติมลงในหลุม 12 หลุมแรก หลุมละ 1 mL
- 2) ใช้ Micropipette ขนาด 100 - 1000  $\mu\text{L}$  ตูดสารละลายอนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ที่ความเข้มข้น 2.56, 1.28, 0.64, 0.32, 0.16, 0.08, 0.04, 0.02, 0.01, 0.005, 0.0025 และ 0 mg/mL มาเติมลงในหลุมที่มีเซลล์ (As') 12 หลุมแรก และหลุมที่เป็นตัวควบคุม (Ac') 12 หลุมสุดท้าย หลุมละ 1 mL

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.6 อนุภาคนาโนไททานเนียมไดออกไซด์ที่ถูกเติมลงในหลุมที่มีเซลล์ (As') และหลุมที่เป็นตัวควบคุม (Ac')

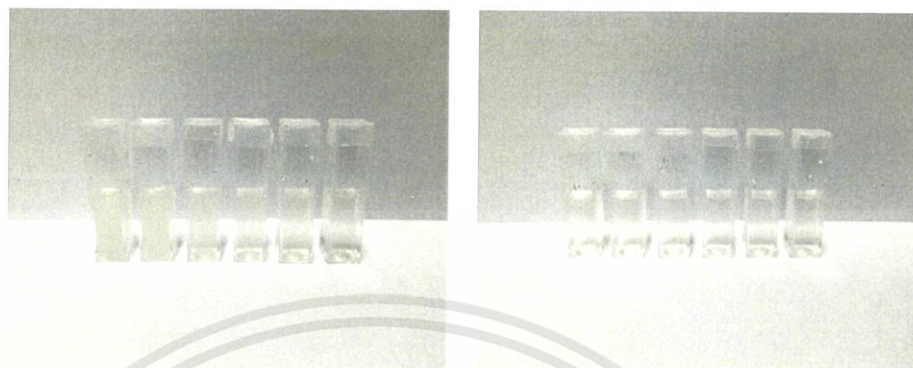
- 3) นำแผ่นพาราฟิล์มมาปิดรอบฝาเพลทให้เรียบร้อย
- 4) ก่อนนำเซลล์เข้าตู้ UV-Chamber ให้ทำความสะอาดตู้ด้วย UV ก่อน 15 นาที
- 5) จากนั้นนำเซลล์เข้าตู้ UV-Chamber ทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 6) หลังจากที้นำเซลล์เข้าตู้ UV-Chamber เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเซลล์ที่ได้มาเติมน้ำ DI ปริมาณ 900  $\mu\text{L}$  เติมลงในหลุมจำนวน 24 หลุม
- 7) ใช้ Micropipette ขนาด 10 - 100  $\mu\text{L}$  ดูด  $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  ปริมาณ 33  $\mu\text{L}$  เติมลงในหลุมแรกที่มีเซลล์ (As) จากนั้นทำการ mix โดยการดูดขึ้น-ลงจำนวน 5 ครั้ง
- 8) ใช้ Micropipette ขนาด 10 - 100  $\mu\text{L}$  ดูด Ferrozine ปริมาณ 67  $\mu\text{L}$  เติมลงในหลุมแรกที่มีเซลล์ (As) จากนั้นทำการ mix โดยการดูดขึ้น-ลงจำนวน 10 ครั้ง
- 9) ทำการทดลองซ้ำข้อ 7 - 8 กับ 11 หลุมที่เหลือ (ขั้นตอนการทดลอง ดังกล่าวต้องทำตามขั้นตอนเท่านั้น เนื่องจากเป็นกระบวนการทางเคมี)
- 10) หลังจากที mix สารลงในหลุมแรกที่มีเซลล์ และทิ้งไว้เป็นเวลา 40 นาที จากนั้นดูดสารละลายปริมาตร 2 mL จากหลุมที่มีเซลล์ (As) ทั้ง 12 หลุมลงในคิวเวทจำนวน 12 อัน



รูปที่ 3.7 As ที่ความเข้มข้น 2.56, 1.28, 0.64, 0.32, 0.16, 0.08, 0.04, 0.02, 0.01, 0.005, 0.0025 และ 0 mg/mL ตามลำดับเรียงจากภาพซ้ายไปขวา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 11) ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 7 – 9 ลงในหลุมที่เป็นตัวควบคุม (Ac)
- 12) จากนั้นดูดสารละลายปริมาตร 2 mL จากหลุมที่เป็นตัวควบคุม (Ac) ทั้ง 12 หลุม ลงในคิวเวทจำนวน 12 อัน



รูปที่ 3.8 Ac ที่ความเข้มข้น 2.56, 1.28, 0.64, 0.32, 0.16, 0.08, 0.04, 0.02, 0.01, 0.005, 0.0025 และ 0 mg/mL ตามลำดับเรียงจากภาพซ้ายไปขวา

- 13) จากนั้นนำเซลล์ (As) และตัวควบคุม (Ac) ที่ดูดใส่คิวเวททั้งหมด 24 อัน มาทำการวัดค่าการดูดกลืนด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer
- 14) นำผลข้อมูลที่ได้จากโปรแกรม Avasoft 7.4.0 Basic มาคำนวณในโปรแกรม Excel และพล็อตกราฟคำนวณหา Ferrous ion chelating (%)

$$\text{Ferrous ion chelating (\%)} = \frac{As}{Ac} \times 100\% \quad (3.1)$$

เมื่อ As คือ ไททาเนียมไดออกไซด์ + เซลล์ + อาหาร

Ac คือ ตัวควบคุม (ไททาเนียมไดออกไซด์+ อาหาร)

- 15) ทำการทดลองซ้ำ แต่จะเปลี่ยนเงื่อนไขในการเข้าตู้ UV-Chamber จาก UV ไปเป็น Visible light ตามลำดับ

### 3.2.4 ขั้นตอนการนับเซลล์

- 1) นับเฉพาะหลุมที่มีเซลล์ (As) ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน
- 2) ดูดสารละลาย  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , Ferrozine, น้ำ DI ออกจากหลุมที่มีเซลล์ทั้งหมด 12 หลุม (โดยเริ่มดูดจากหลุมที่มีความเข้มข้นน้อยไปมาก)
- 3) ใช้ Micropipette ขนาด 100 - 1000  $\mu\text{L}$  ดูด PBS ปริมาณ 500  $\mu\text{L}$  ลงในหลุมทั้ง 12 หลุม เพื่อชะล้างและหยุดการทำงานของสารละลายต่างๆ กับเซลล์ แล้วพักทิ้งไว้ 1-2 นาที

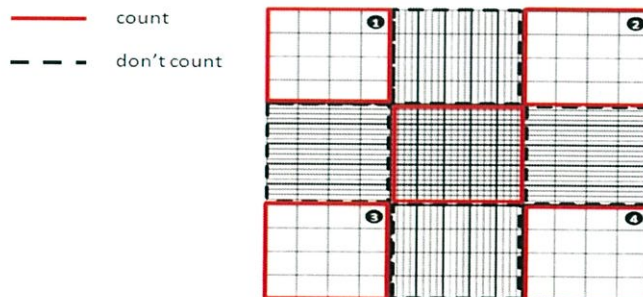
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 4) จากนั้นใช้ Micropipette ขนาด 100 - 1000  $\mu\text{L}$  ดูด PBS ปริมาณ 500  $\mu\text{L}$  ที่เติมลงในหลุมทั้ง 12 หลุม ออกทิ้งจนหมด
- 5) ใช้ Micropipette ขนาด 100 - 1000  $\mu\text{L}$  ดูด Typsin ปริมาณ 200  $\mu\text{L}$  ลงในหลุมทั้ง 12 หลุม เพื่อย่อยเซลล์ที่เกาะอยู่ที่พื้นหลุม ให้หลุดออก แล้วพักทิ้งไว้ในเวลาที่เหมาะสมประมาณ 10 นาที
- 6) จากนั้นใช้ Micropipette ขนาด 100 - 1000  $\mu\text{L}$  ดูด Typsin ปริมาณ 200  $\mu\text{L}$  ที่เติมลงในหลุมทั้ง 12 หลุม ออกทิ้ง
- 7) ใช้ Micropipette ขนาด 100 - 1000  $\mu\text{L}$  ดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ 400  $\mu\text{L}$  ในเซลล์แต่ละหลุมเพื่อนำเซลล์ออกมาทำการดูด-ปล่อยภายในหลุม เพื่อให้เซลล์ที่กั้นหลุมหลุด
- 8) ใช้ Micropipette ขนาด 100 - 1000  $\mu\text{L}$  ดูด Tripen blue ปริมาณ 100  $\mu\text{L}$  ลงในหลุมทั้ง 12 หลุม ผสมให้เข้ากันกับเซลล์ภายในหลุม (ทำที่ละหลุม โดยเริ่มจากหลุมที่มีความเข้มข้นต่ำสุดก่อน)
- 9) ใช้ Micropipette ขนาด 10 - 100  $\mu\text{L}$  ดูดเซลล์ที่ผสมสีเรียบร้อยแล้วมาหยดลงบนแผ่น Hemacytometer แล้วนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์เพื่อทำการนับเซลล์



รูปที่ 3.9 นำแผ่น Hemacytometer มาส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์

- 10) นับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต โดยนับเซลล์ทั้งหมด 5 ช่องใหญ่ คือ ช่องที่ 1 2 3 4 และช่องกลางดังรูปที่ 3.10



รูปที่ 3.10 แสดงช่องการนับเซลล์ทั้งหมด 5 ช่องใหญ่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

11) คำนวณการนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตต่อ 1 mL ดังสมการต่อไปนี้

$$\text{จำนวนเซลล์มีชีวิตต่อ 1 mL} = \text{จำนวนเซลล์มีชีวิตเฉลี่ย} \times 10^4 \times \text{ค่าความเจือจาง} \quad (3.2)$$

$$\text{ค่าความเจือจาง} = \left( \frac{\text{ปริมาตรเซลล์แขวนลอยที่ดูดออกมานับ} + \text{ปริมาตรสีย้อม}}{\text{ปริมาตรเซลล์แขวนลอยที่ดูดออกมานับ}} \right) \quad (3.3)$$

$$= \frac{0.4 \text{ mL} + 0.1 \text{ mL}}{0.4 \text{ mL}}$$

$$= \frac{0.5 \text{ mL}}{0.4 \text{ mL}}$$

$$= \frac{5}{4}$$

$$= 1.25$$

12) ยกตัวอย่าง การคำนวณผลที่ได้จากการนับเซลล์

10		9
	6	
7		11

นำจำนวนเซลล์ที่ได้มาคำนวณ ดังนี้

$$\text{จะได้} \quad \frac{10+9+6+7+11}{5} \times 10^4 \times \frac{5}{4} = 107500 \text{ เซลล์}$$

แสดงว่า จำนวนเซลล์มีชีวิตต่อ 1 mL มีค่าเท่ากับ 107500 เซลล์

13) นำค่าที่คำนวณได้มาพล็อตกราฟ Live - Cells (%)

$$\text{Live-Cell (\%)} = \frac{Ns}{Nc} \times 100\% \quad (3.4)$$

เมื่อ  $Ns$  คือ จำนวนเซลล์ที่ความเข้มข้นใดๆ

$Nc$  คือ จำนวนเซลล์ที่ค่าความเข้มข้นเป็น 0 mg/mL

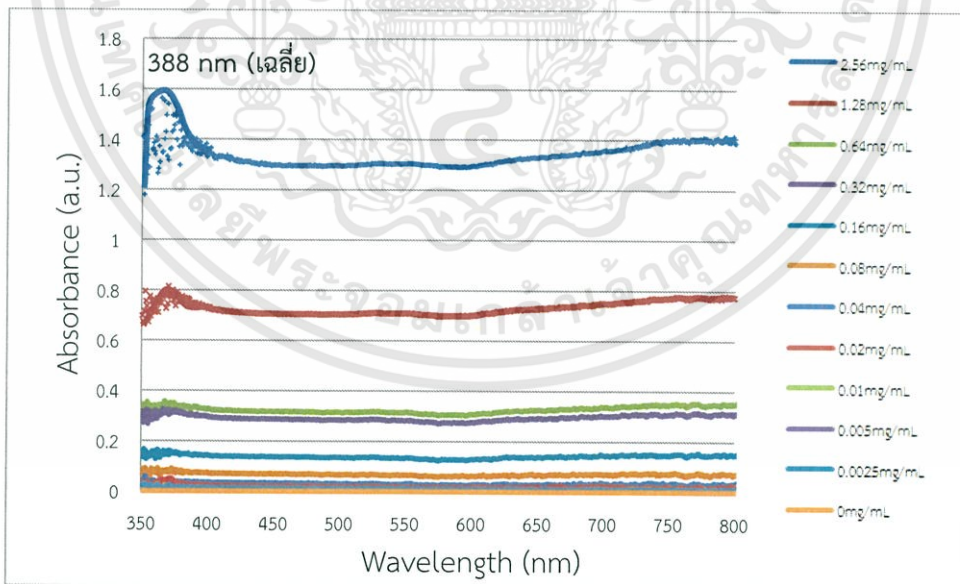
## บทที่ 4

### ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

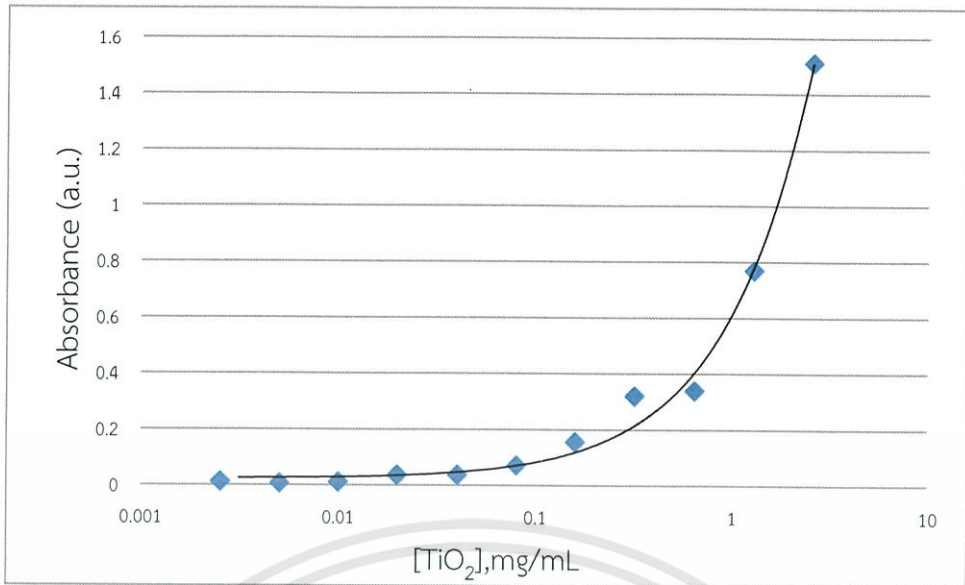
#### 4.1 การศึกษาสมบัติเชิงแสงของไททานเนียมไดออกไซด์และซิงค์ออกไซด์

##### 4.1.1 การศึกษาสมบัติเชิงแสงของไททานเนียมไดออกไซด์

รูปที่ 4.1 แสดงกราฟการดูดกลืนแสงของไททานเนียมไดออกไซด์ที่ความเข้มข้น 2.56, 1.28, 0.64, 0.32, 0.16, 0.08, 0.04, 0.02, 0.01, 0.005, 0.0025 และ 0 mg/mL ในการทดลองจะไม่ใช่ความเข้มข้นของสารละลายไททานเนียมไดออกไซด์เกิน 2.56 mg/mL<sup>[11]</sup> เนื่องจากถ้าความเข้มข้นของสารละลายไททานเนียมไดออกไซด์เกิน 2.56 mg/mL จะทำลายเซลล์เม็ดเลือดแดง ซึ่งเซลล์เม็ดเลือดแดงจะเปรียบเสมือนเซลล์ปกติ จากรูปพบว่าไททานเนียมไดออกไซด์มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความเข้มข้น 2.56 mg/mL และค่าการดูดกลืนแสงจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารละลายลดลง ซึ่งเป็นไปตามกฎของเบียร์และแลมเบิร์ต ( $A = aCl$ )<sup>[7]</sup> ค่าความเข้มข้นต่างๆ ของสารละลายไททานเนียมไดออกไซด์จะมีค่าการดูดกลืนแสงจะมีพีคสูงสุดอยู่ที่ความยาวคลื่นประมาณ 388 nm ซึ่งพีคสูงสุดจะมีค่าใกล้เคียงกับแถบช่องว่างพลังงานของไททานเนียมไดออกไซด์ 3.2 eV หรือ 387 nm<sup>[1]</sup> จากรูปที่ 4.1 จะนำค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (388 nm) มาพล็อตกับความเข้มข้นซึ่งจะแสดงในรูปที่ 4.2 ทำให้ได้ค่าความสัมพันธ์แบบเอ็กซีโพเนนเชียล



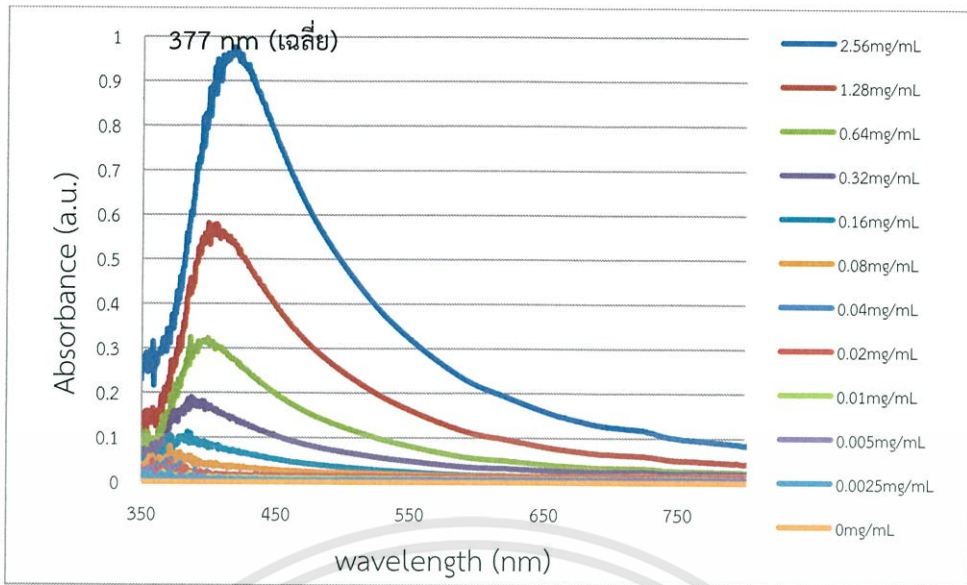
รูปที่ 4.1 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงกับความยาวคลื่นของสารละลายไททานเนียมไดออกไซด์ที่ความเข้มข้น 2.56, 1.28, 0.64, 0.32, 0.16, 0.08, 0.04, 0.02, 0.01, 0.005, 0.0025 และ 0 mg/mL



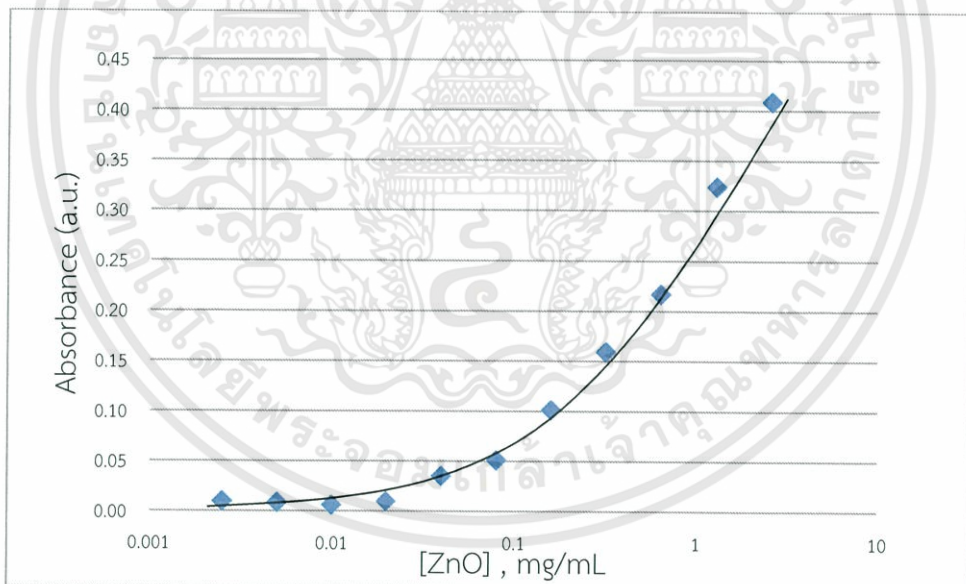
รูปที่ 4.2 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายไททาเนียมไดออกไซด์

#### 4.1.2 การศึกษาสมบัติเชิงแสงของซิงค์ออกไซด์

รูปที่ 4.3 แสดงกราฟการดูดกลืนแสงของสารละลายซิงค์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 2.56, 1.28, 0.64, 0.32, 0.16, 0.08, 0.04, 0.02, 0.01, 0.005, 0.0025 และ 0 mg/mL ในการทดลองจะไม่ใช้ความเข้มข้นของสารละลายซิงค์ออกไซด์เกิน 2.56 mg/mL เนื่องจากถ้าความเข้มข้นของสารละลายซิงค์ออกไซด์เกิน 2.56 mg/mL จะทำลายเซลล์เม็ดเลือดแดง ซึ่งเซลล์เม็ดเลือดแดงจะเปรียบเสมือนเซลล์ปกติ จากรูปพบว่าสารละลายซิงค์ออกไซด์มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความเข้มข้น 2.56 mg/mL และค่าการดูดกลืนแสงจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารละลายลดลง ซึ่งเป็นไปตามกฎของเบียร์และแลมเบิร์ต ( $A=aCl$ ) ในความเข้มข้นต่างๆ ของสารละลายซิงค์ออกไซด์ ค่าการดูดกลืนแสงจะมีพีคสูงสุดอยู่ที่ความยาวคลื่นประมาณ 377 nm ซึ่งพีคสูงสุดจะมีค่าใกล้เคียงกับแถบช่องว่างพลังงานของซิงค์ออกไซด์คือ 3.37 eV หรือ 368 nm<sup>[12]</sup> จากรูปที่ 4.3 จะนำค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (377 nm) มาพล็อตกับความเข้มข้นซึ่งจะแสดงในรูปที่ 4.4 ทำให้ได้ค่าความสัมพันธ์แบบเอ็กซีโพเนนเชียล



รูปที่ 4.3 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงกับความยาวคลื่นของสารละลายซิงค์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 2.56, 1.28, 0.64, 0.32, 0.16, 0.08, 0.04, 0.02, 0.01, 0.005, 0.0025 และ 0 mg/mL

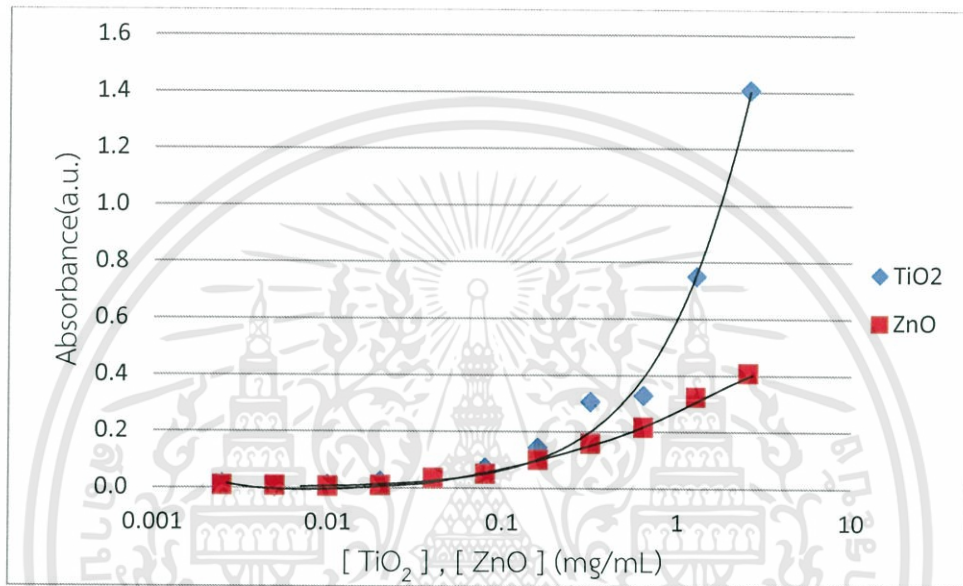


รูปที่ 4.4 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายซิงค์ออกไซด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.1.3 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงที่พีคสูงสุดของไททาเนียมไดออกไซด์และซิงค์ออกไซด์

รูปที่ 4.5 แสดงกราฟเปรียบเทียบสเปกตรัมการดูดกลืนแสงที่มีพีคสูงสุดของสารละลายไททาเนียมไดออกไซด์ (388 nm) และซิงค์ออกไซด์ (377 nm) จากรูปจะเห็นได้ว่าไททาเนียมไดออกไซด์จะมีค่าการดูดกลืนแสงที่มากกว่าซิงค์ออกไซด์ เนื่องจากไททาเนียมไดออกไซด์มีแถบช่องว่างพลังงานที่น้อยกว่าซิงค์ออกไซด์ ซึ่งไททาเนียมไดออกไซด์มีแถบช่องว่างพลังงาน 3.2 eV หรือ 387 nm และ ซิงค์ออกไซด์มีแถบช่องว่างพลังงาน 3.37 eV หรือ 368 nm



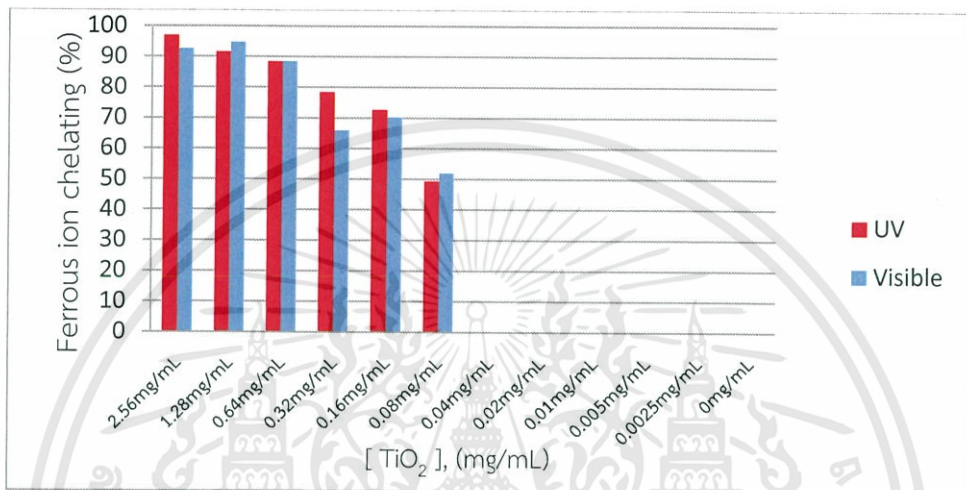
รูปที่ 4.5 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงที่พีคสูงสุดของสารละลายไททาเนียมไดออกไซด์ (388 nm) และซิงค์ออกไซด์ (377 nm)

## 4.2 ผลกระทบของไททาเนียมไดออกไซด์และซิงค์ออกไซด์ที่มีต่อเซลล์มะเร็งเต้านม

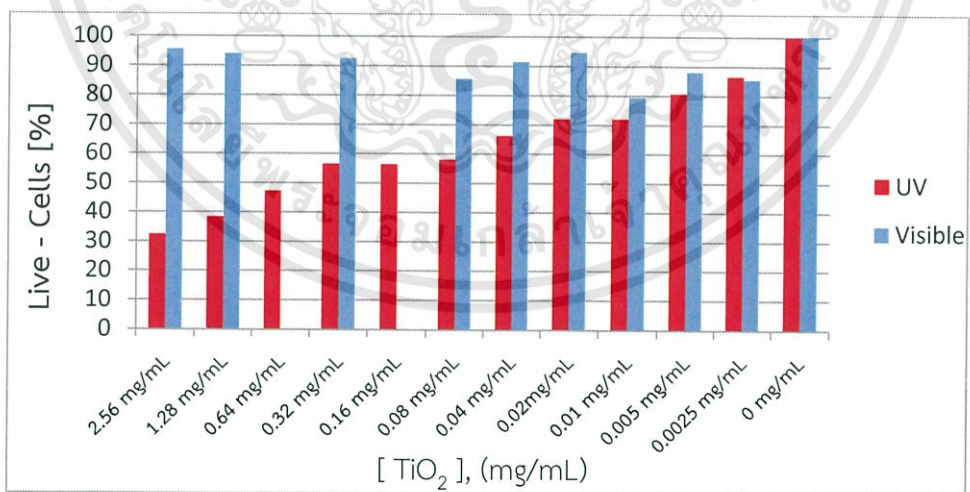
### 4.2.1 ผลกระทบของไททาเนียมไดออกไซด์ที่มีต่อเซลล์มะเร็งเต้านม

รูปที่ 4.6 แสดงเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการจับกับโลหะเชิงซ้อนกับความเข้มข้นของไททาเนียมไดออกไซด์ที่ถูกกระตุ้นด้วย UV และ Visible light จากรูปจะเห็นได้ว่าเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการจับกับโลหะเชิงซ้อนที่กระตุ้นด้วย UV จะได้ผลดีที่สุดเมื่อเทียบกับ Visible light เนื่องจาก UV มีความยาวคลื่นประมาณ 100 - 400 nm ซึ่งมีค่าสอดคล้องกับแถบช่องว่างพลังงานของไททาเนียมไดออกไซด์ (3.2 eV) จากรูปที่ 4.6 ไททาเนียมไดออกไซด์ถูกกระตุ้นด้วย UV ที่ความเข้มข้น 2.56 mg/mL เปอร์เซ็นต์ผลการจับกับโลหะเชิงซ้อนจะมีค่ามากที่สุด และในรูปที่ 4.7 แสดงเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งเต้านม จากกราฟจะเห็นได้ว่าที่ความเข้มข้น 2.56 mg/mL เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งเต้านมจะมีค่าน้อยที่สุดแต่เมื่อลดความเข้มข้นของสารละลายลง เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งเต้านมก็จะเพิ่มขึ้น ซึ่งจาก

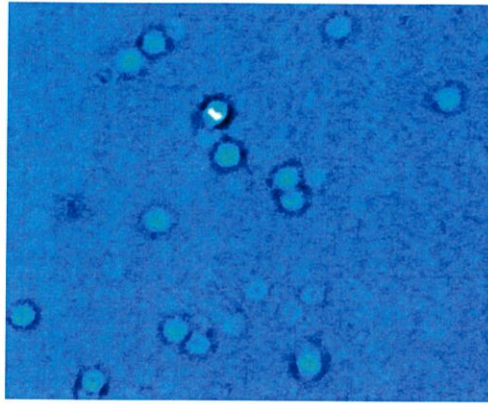
การตรวจสอบการมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งเต้านมด้วยการนับจำนวนเซลล์โดยการนำเซลล์มาส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ ซึ่งเซลล์ที่มีชีวิตรอดจะมีลักษณะใส กลม มีขนาดประมาณ  $20 \mu\text{m}$  และเซลล์ตายจะมีลักษณะกลมไปจนถึงไม่มีรูปร่าง มีสีทึบซึ่งเป็นผลจากการติดสีย้อม มีขนาดประมาณ  $20 \mu\text{m}$  ดังแสดงในรูปที่ 4.8 และ รูปที่ 4.9 ตามลำดับ จากกราฟในรูปที่ 4.6 จะเห็นว่าที่ความเข้มข้น 0.04, 0.02, 0.01, 0.005, 0.0025 และ 0 mg/mL ไม่สามารถแสดงค่าได้เนื่องจากค่าการดูดกลืนแสงเกิดสัญญาณรบกวนเนื่องจากความเข้มข้นน้อยเกินไป



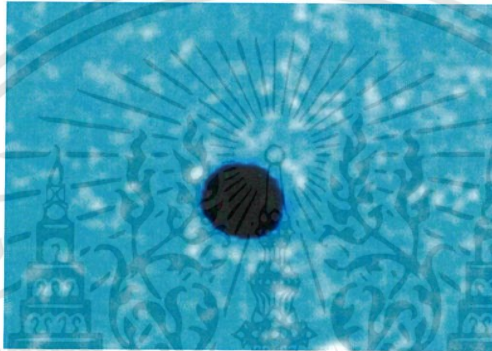
รูปที่ 4.6 ความสามารถในการจับกับโลหะเชิงซ้อนกับความเข้มข้นของไททาเนียมไดออกไซด์ที่ถูกกระตุ้นด้วย UV และ Visible light



รูปที่ 4.7 การมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งเต้านมกับความเข้มข้นของไททาเนียมไดออกไซด์ที่ถูกกระตุ้นด้วย UV และ Visible light



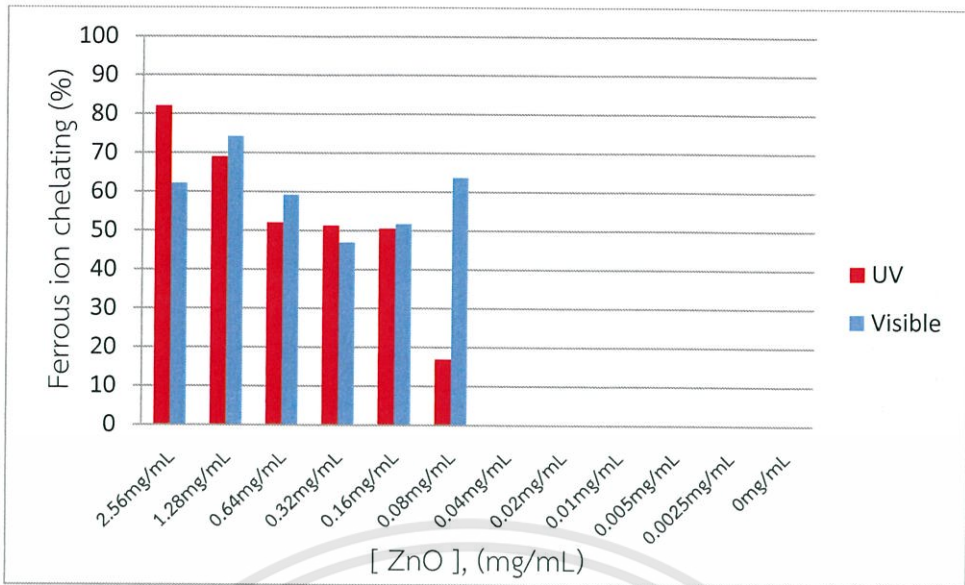
รูปที่ 4.8 เซลล์มะเร็งเต้านมที่มีชีวิตรอด (ขนาดเซลล์สี่  $\approx 20 \mu\text{m}$  )



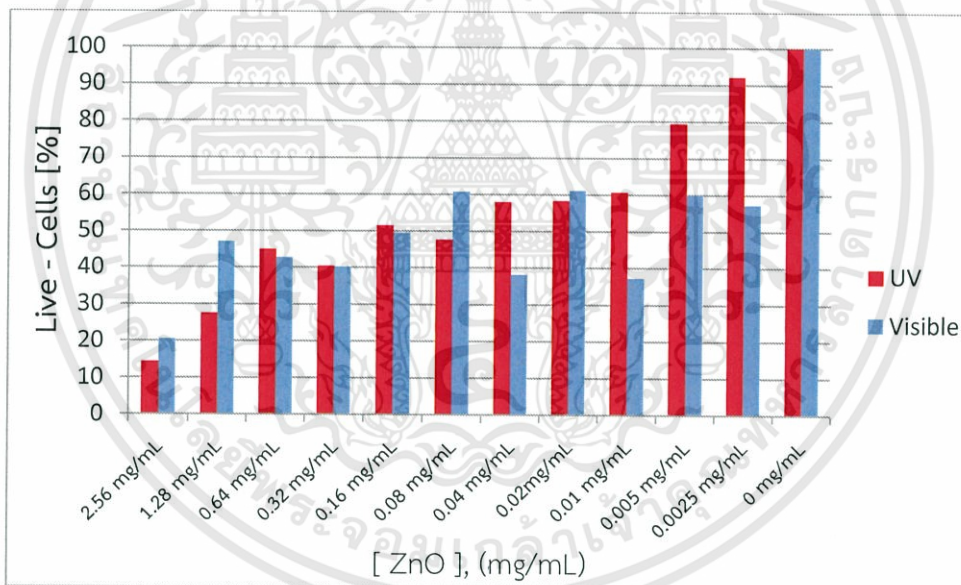
รูปที่ 4.9 เซลล์มะเร็งเต้านมที่ตาย (ขนาดเซลล์ทึบแสง  $\approx 20 \mu\text{m}$  )

#### 4.2.2 ผลกระทบของซิงค์ออกไซด์ที่มีต่อเซลล์มะเร็งเต้านม

รูปที่ 4.10 แสดงเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการจับกับโลหะเชิงซ้อนกับความเข้มข้นของซิงค์ออกไซด์ที่ถูกกระตุ้นด้วย UV และ Visible light จากรูปจะเห็นได้ว่าเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการจับกับโลหะเชิงซ้อนที่กระตุ้นด้วย UV จะได้ผลดีที่สุดเมื่อเทียบกับ Visible light เนื่องจาก UV มีความยาวคลื่นประมาณ 100 - 400 nm ซึ่งมีค่าสอดคล้องกับแถบช่องว่างพลังงานของซิงค์ออกไซด์ (3.37 eV) จากรูปที่ 4.10 ซิงค์ออกไซด์ถูกกระตุ้นด้วย UV จะเห็นได้ว่าที่ความเข้มข้น 2.56 mg/mL ผลการจับกับโลหะเชิงซ้อนจะมีค่ามากที่สุด และในรูปที่ 4.11 แสดงเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งเต้านม จากกราฟจะเห็นได้ว่าที่ความเข้มข้น 2.56 mg/mL เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งเต้านมจะมีค่าน้อยที่สุดแต่เมื่อลดความเข้มข้นของสารละลายลง เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งเต้านมก็จะเพิ่มขึ้น จากกราฟในรูปที่ 4.10 จะเห็นได้ว่าที่ความเข้มข้น 0.04, 0.02, 0.01, 0.005, 0.0025 และ 0 mg/mL ไม่สามารถแสดงค่าได้เนื่องจากค่าการดูดกลืนแสงเกิดสัญญาณรบกวนเนื่องจากความเข้มข้นน้อยเกินไป



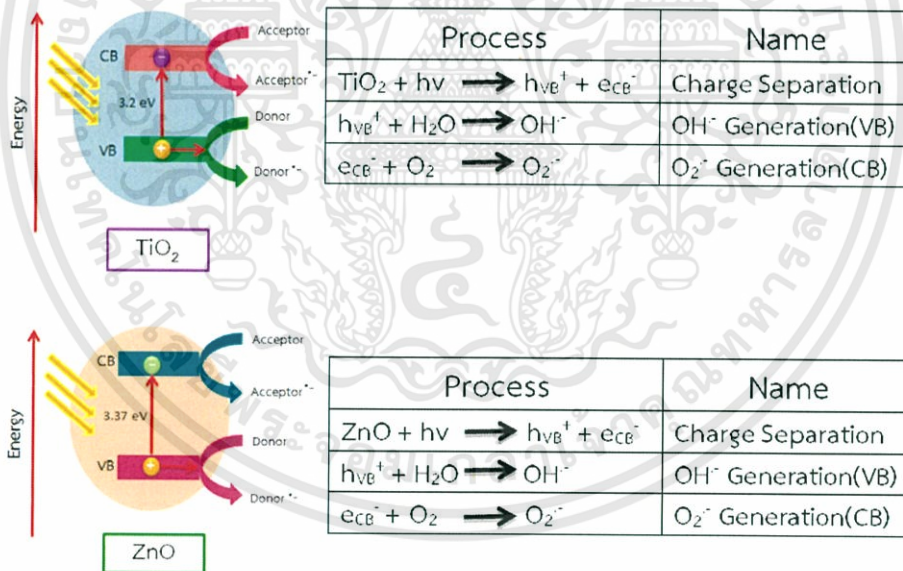
รูปที่ 4.10 ความสามารถในการจับกับโลหะเชิงซ้อนกับความเข้มข้นของซิงค์ออกไซด์ที่ถูกกระตุ้นด้วย UV และ Visible light



รูปที่ 4.11 การมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งเต้านมกับความเข้มข้นของซิงค์ออกไซด์ที่ถูกกระตุ้นด้วย UV และ Visible light

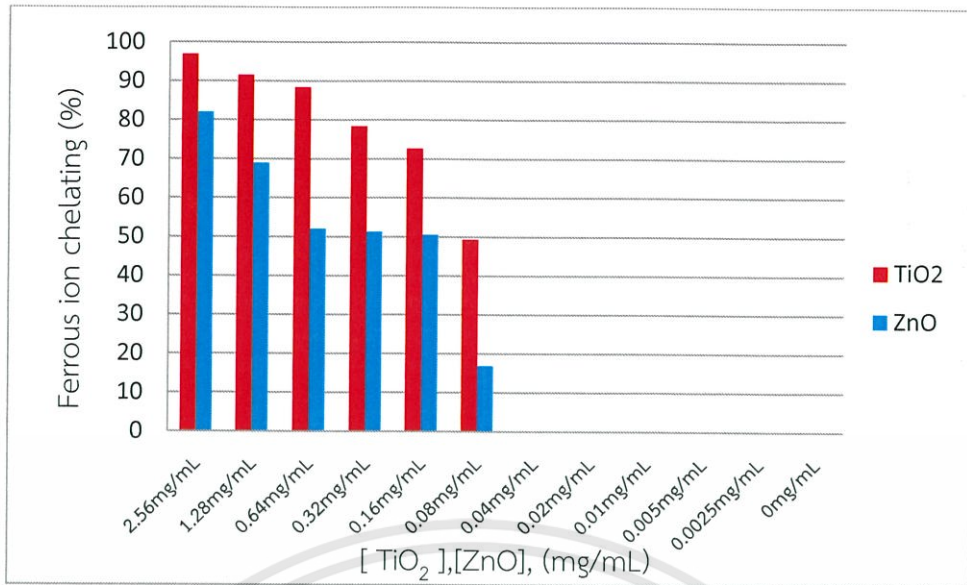
#### 4.2.3 ผลกระทบของไททานเนียมไดออกไซด์และซิงค์ออกไซด์ที่มีต่อเซลล์มะเร็งเต้านม

การลำเลียงสารแบบเอนโดโซโทซิสเป็นการลำเลียงสารเข้าสู่เซลล์<sup>[5]</sup> ซึ่งกลไกการลำเลียงสารเข้าสู่เซลล์จะมี ฟาโกโซโทซิส, พิโนโซโทซิส และการนำสารเข้าสู่เซลล์โดยอาศัยตัวรับ ซึ่งการทดลอง สารที่เข้าสู่เซลล์จะเป็นสารละลายออกไซด์ของโลหะซึ่งเป็นของเหลว สารละลายออกไซด์ของโลหะจะเข้าสู่เซลล์มะเร็งเต้านมโดยกระบวนการพิโนโซโทซิสและหลังจากที่สารละลายออกไซด์ของโลหะเข้าสู่เซลล์มะเร็งเต้านมจะเกิดกระบวนการเร่งปฏิกิริยาโดยใช้แสง ซึ่งจากรูปที่ 4.12 เมื่อมีแสงเข้าไปกระตุ้นอิเล็กตรอน ทำให้อิเล็กตรอนที่อยู่ในชั้น Valence Band (VB) ถูกกระตุ้นไปยังชั้น Conduction Band (CB) ในชั้นของ Valence Band (VB) จะมี Hole เกิดขึ้น ส่วนอิเล็กตรอนที่อยู่ในชั้น Conduction Band (CB) จะไปรวมตัวกันกับ  $O_2$  เกิดเป็นออกซิเจนไดออกไซด์ ( $O_2^-$ ) ใช้เป็นสารตั้งต้นอนุมูลอิสระ (Reactive Oxygen Species: ROS) และในขณะเดียวกัน Hole ที่อยู่ในชั้น Valence Band (VB) จะไปทำปฏิกิริยากับ  $H_2O$  เกิดเป็นไฮดรอกซิล ( $OH^-$ ) เป็นตัวไปจับเซลล์มะเร็งเต้านม โดยการ Diffusion เข้าไปรอบๆ นิวเคลียสของเซลล์ เนื่องจากผนังของนิวเคลียสมีขนาด 39 nm<sup>[13]</sup> ทำให้ไททานเนียมไดออกไซด์และซิงค์ออกไซด์ที่มีขนาดประมาณ 100 nm ไม่สามารถเดินทางผ่านช่องผนังของนิวเคลียสเข้าไปในนิวเคลียส ได้โดยตรง ซึ่งในการ Diffusion จะทำให้โครงสร้างของ DNA เปลี่ยนรูปร่างไปจากเดิมซึ่งเป็นผลทำให้เซลล์มะเร็งเต้านมถูกทำลาย



รูปที่ 4.12 กระบวนการเร่งปฏิกิริยาโดยใช้แสงโฟโตคะตะไลซิส

รูปที่ 4.13 แสดงความสามารถในการจับกับโลหะเชิงซ้อนของไททานเนียมไดออกไซด์และซิงค์ออกไซด์ จากรูปไททานเนียมไดออกไซด์จะมีความสามารถในการจับกับโลหะเชิงซ้อนได้ดีกว่าซิงค์ออกไซด์



รูปที่ 4.13 ความสามารถในการจับกับโลหะเชิงซ้อนกับความเข้มข้นของไททาเนียมไดออกไซด์ และ ซิงค์ออกไซด์ที่ถูกกระตุ้นด้วย UV

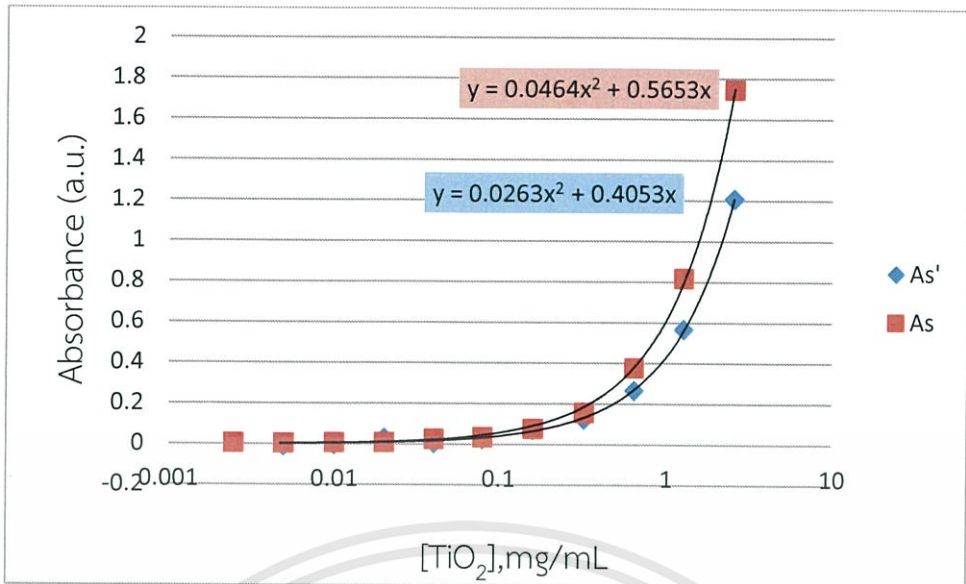
ซึ่งแสดงเพิ่มเติมในรูปที่ 4.14 และ 4.15 จากรูปที่ 4.14 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของไททาเนียมไดออกไซด์ก่อนกระตุ้นด้วย UV (As') และหลังกระตุ้นด้วย UV (As) และรูปที่ 4.15 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของซิงค์ออกไซด์ก่อนกระตุ้นด้วย UV (As') และหลังกระตุ้นด้วย UV (As) นำค่าความเข้มข้นหลังกระตุ้นด้วยแสง (C) ทหารด้วยค่าความความเข้มข้นก่อนกระตุ้นด้วยแสง (C<sub>0</sub>) และนำมาคูณด้วย 100 % ดังสมการที่ 4.1

$$\left(\frac{C}{C_0}\right) \times 100\% \quad (4.1)$$

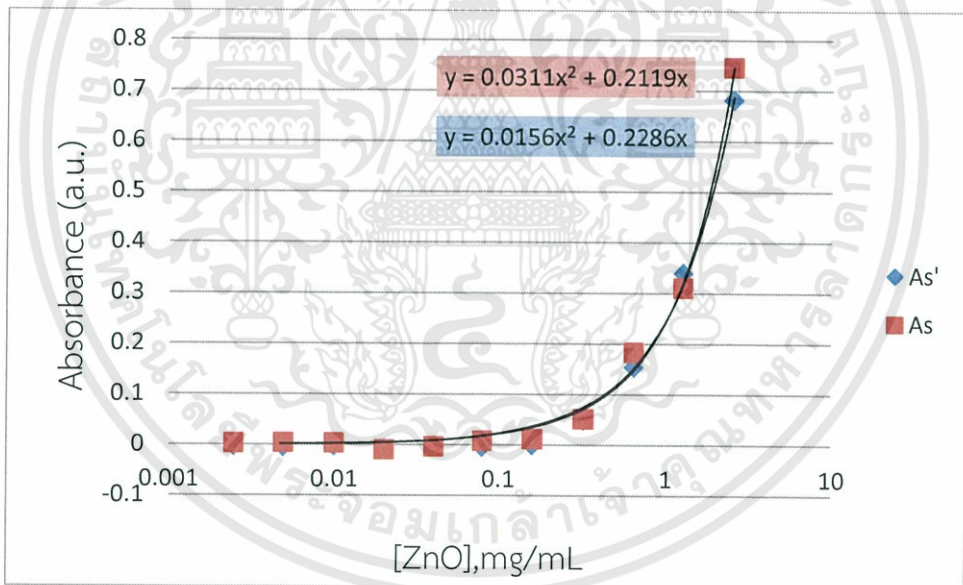
เมื่อ C คือ ความเข้มข้นก่อนการกระตุ้นด้วยแสง

C<sub>0</sub> คือ ความเข้มข้นหลังการกระตุ้นด้วยแสง

จากนั้นนำค่าที่ได้มาเขียนกราฟจะได้อัตราการแพร่ของสารละลายไททาเนียมไดออกไซด์และซิงค์ออกไซด์เข้าสู่เซลล์มะเร็งเต้านมดังรูปที่ 4.16 ซึ่งจากกราฟจะเห็นว่าไททาเนียมไดออกไซด์มีอัตราการแพร่เข้าสู่เซลล์มะเร็งเต้านมได้น้อยกว่าซิงค์ออกไซด์ ทำให้ประสิทธิภาพในการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมไม่ดี จึงส่งผลให้เซลล์มะเร็งเต้านมมีชีวิตรอดมากกว่าเมื่อเทียบกับซิงค์ออกไซด์ดังแสดงในรูปที่ 4.17

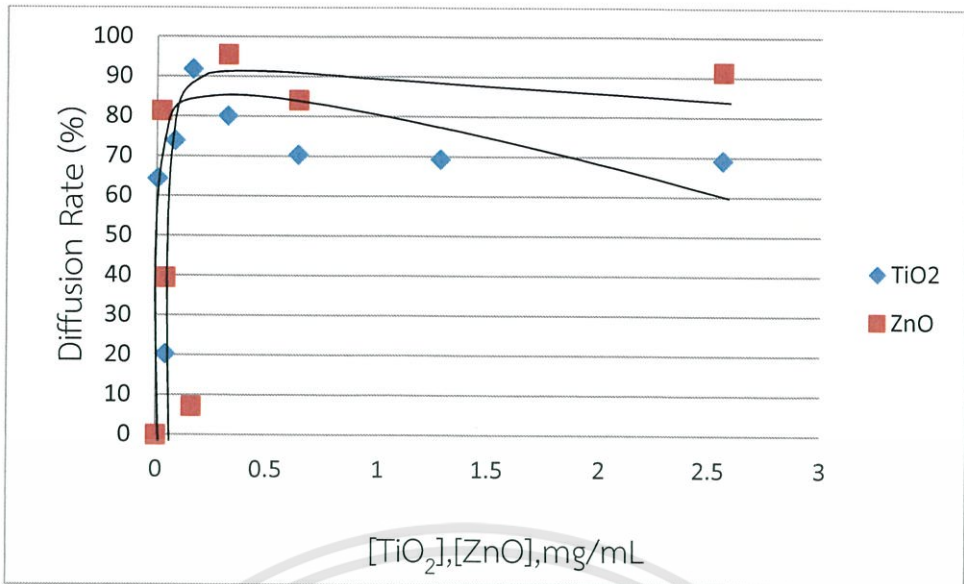


รูปที่ 4.14 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายไททาเนียมไดออกไซด์ ก่อนกระตุ้นด้วย UV (As') และหลังกระตุ้นด้วย UV (As)

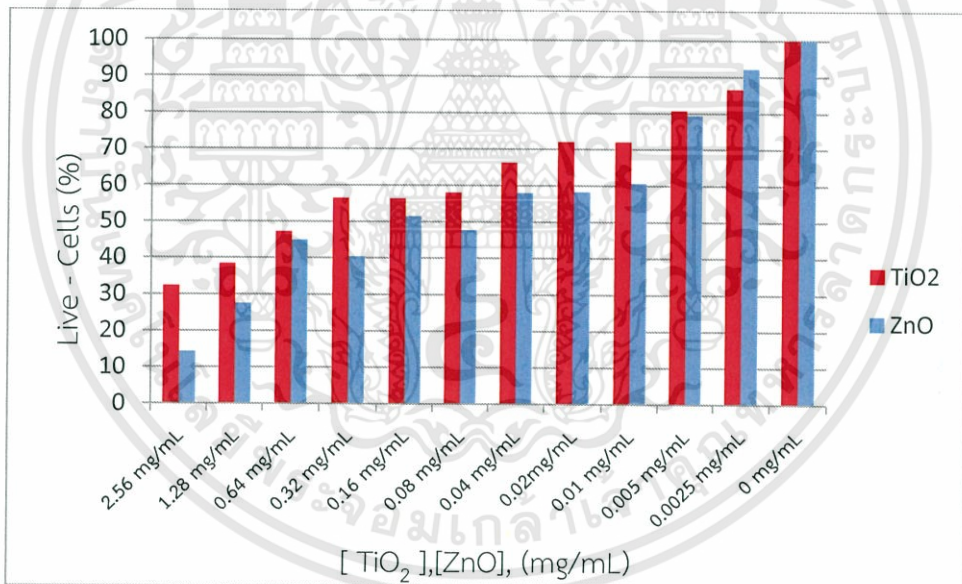


รูปที่ 4.15 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายซิงค์ออกไซด์ ก่อนกระตุ้นด้วย UV (As') และหลังกระตุ้นด้วยแสง UV (As)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.16 อัตราการแพร่ของสารละลายไททาเนียมไดออกไซด์และซิงค์ออกไซด์เข้าสู่เซลล์มะเร็งเต้านม



รูปที่ 4.17 การมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งเต้านมกับความเข้มข้นของไททาเนียมไดออกไซด์ และ ซิงค์ออกไซด์ที่กระตุ้นด้วย UV

## สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

### 5.1 สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาผลของอนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ต่อความเป็นพิษในเซลล์มะเร็งเต้านม เพื่อนำผลที่ได้มาเปรียบเทียบกับอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ พบว่าไททาเนียมไดออกไซด์และซิงค์ออกไซด์มีค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารละลายเพิ่มขึ้น และค่าการดูดกลืนแสงจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารละลายลดลงซึ่งเป็นไปตามกฎของเบียร์และแลมเบิร์ต ซึ่งข้อจำกัดในการใช้ไททาเนียมไดออกไซด์และซิงค์ออกไซด์ต้องมีความเข้มข้นของสารละลายไม่เกิน 2.56 mg/mL ถ้าความเข้มข้นของสารละลายเกิน 2.56 mg/mL จะไปทำลายเซลล์เม็ดเลือดแดง ซึ่งเซลล์เม็ดเลือดแดงจะเปรียบเสมือนเซลล์ปกติ ไททาเนียมไดออกไซด์มีค่าการดูดกลืนแสงมากกว่าซิงค์ออกไซด์ เนื่องจากไททาเนียมไดออกไซด์มีแถบช่องว่างพลังงานน้อยกว่าซิงค์ออกไซด์ ซึ่งไททาเนียมไดออกไซด์มีแถบช่องว่างพลังงานเท่ากับ 3.2 eV และซิงค์ออกไซด์มีแถบช่องว่างพลังงานเท่ากับ 3.37 eV

ไททาเนียมไดออกไซด์และซิงค์ออกไซด์จะเข้าสู่เซลล์มะเร็งเต้านมโดยกระบวนการพินโไซโทซิสและหลังจากที่ไททาเนียมไดออกไซด์และซิงค์ออกไซด์เข้าสู่เซลล์มะเร็งเต้านมแล้ว จะเกิดกระบวนการเร่งปฏิกิริยาโดยใช้แสงซึ่งจะเกิดเป็นออกซิเจนไดออกไซด์ ( $O_2^{\cdot -}$ ) ใช้เป็นสารตั้งต้นอนุมูลอิสระ (Reactive Oxygen Species: ROS) และไฮดรอกซิล ( $OH^{\cdot}$ ) เป็นตัวไปจับกับเซลล์มะเร็งเต้านมโดยการ Diffusion ผลของการ Diffusion จะเป็นตัวไปปรับเปลี่ยนโครงสร้างของ DNA จากเดิมทำให้เซลล์มะเร็งเต้านมถูกทำลาย

ในด้านผลกระทบของไททาเนียมไดออกไซด์และซิงค์ออกไซด์ที่มีต่อเซลล์มะเร็งเต้านม จะเห็นได้ว่า ไททาเนียมไดออกไซด์และซิงค์ออกไซด์มีความสามารถในการจับกับโลหะเชิงซ้อนได้ผลดีที่สุดเมื่อถูกกระตุ้นด้วย UV เนื่องจากมีค่าที่สอดคล้องกับแถบช่องว่างพลังงานของไททาเนียมไดออกไซด์และซิงค์ออกไซด์ ไททาเนียมไดออกไซด์จะมีอัตราการแพร่เข้าสู่เซลล์มะเร็งเต้านมได้น้อยกว่าซิงค์ออกไซด์ ทำให้ประสิทธิภาพในการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมไม่ดี จึงส่งผลให้เซลล์มะเร็งเต้านมมีชีวิตรอดมากกว่าเมื่อเทียบกับซิงค์ออกไซด์

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

- ในการเตรียมสารละลายที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน อาจได้ความเข้มข้นที่มีความคลาดเคลื่อน เนื่องจากการชั่งสาร และความคลาดเคลื่อนของอุปกรณ์การตวงสาร
- ควรเตรียมสารละลายที่ความเข้มข้นต่างๆ ให้ได้สัดส่วนที่เหมาะสมเพื่อให้ผลที่ได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงมีความถูกต้องและแม่นยำ
- การนับจำนวนเซลล์มะเร็งเต้านมที่ตายแล้ว ผู้ทำการทดลองควรใช้มาตรฐานในการนับจำนวนเซลล์แบบเดียวกันทั้งหมด



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

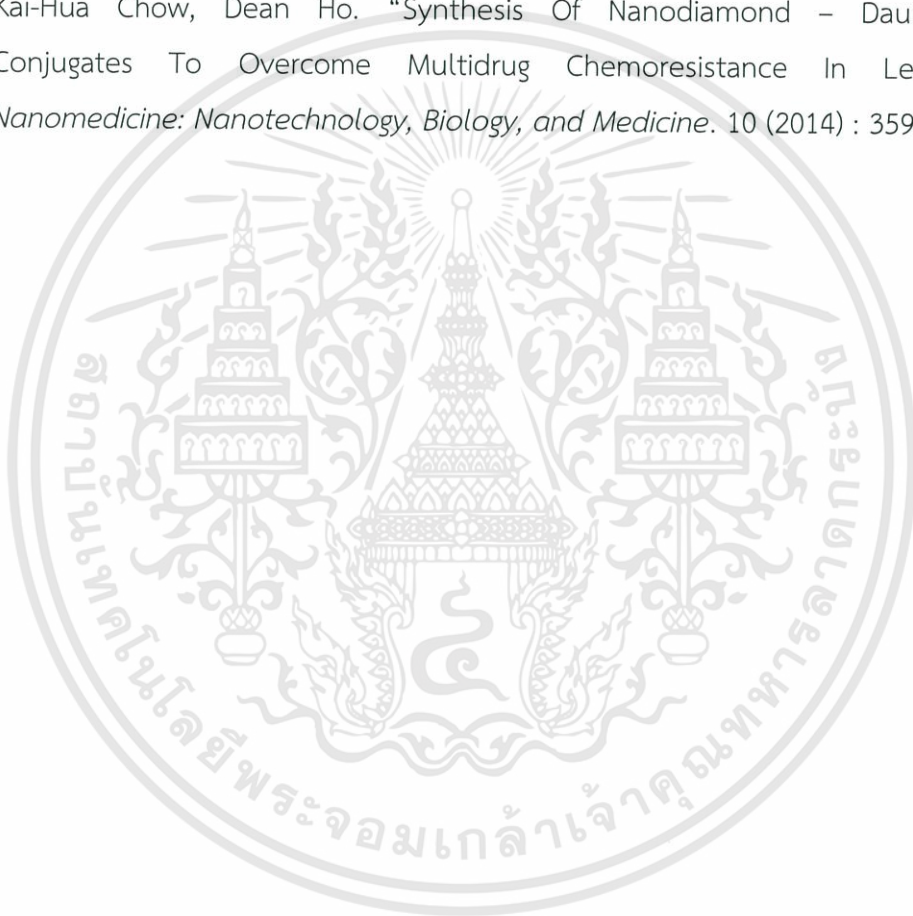
## เอกสารอ้างอิง

- [1] สายไหม ศรีประไหม, สิริวุฒิ โททุโย. 2549. “การศึกษาสมบัติการยึดเกาะของไททาเนียมไดออกไซด์ (TiO<sub>2</sub>) อนุภาคนาโน บนผิวโพลียูรีเทนโดยวิธีการฉีดยึด.” วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ
- [2] ชลดา อีการณวงศ์. 2555. “ไททาเนียมไดออกไซด์วัสดุฆ่าเชื้อแบคทีเรีย.” *วารสารวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น*. 40(4):1049-1058
- [3] เสาวลักษณ์ บุญยอด. 2554. “ปฏิกิริยาโฟโตแคตะไลติกและพฤติกรรมการฆ่าเชื้อแบคทีเรียของฟิล์มบางไททาเนียมไดออกไซด์บนพอลิเมอร์.” วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมวัสดุ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
- [4] สาขาคล้ายศาสตร์ศิระษะ คอและ เต้านมภาควิชาคล้ายศาสตร์คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล. 2555. *มะเร็งเต้านม*. กรุงเทพฯ
- [5] เกียรติกร อภัยวงศ์. 2552. *วิชาวิทยาศาสตร์ชีววิทยา (ONET)*. กรุงเทพฯ : โครงการแบรนต์ซัมเมอร์แคมป์
- [6] ผศ.ดร. อุ่นเรือน เพชรวัลย์. *บทปฏิบัติการที่ 2 การนับจำนวนเซลล์สิ่งมีชีวิต*
- [7] พิณทิพ รื่นวงษา, ภิญญู พานิชพันธ์ และเสาวภาคย์ อีราทรง .สีและแสง การวัดการดูดกลืนแสง [online] Available: <http://www.il.mahidol.ac.th/e-media/color-light.html>
- [8] ขนิษฐา หทัยสมิทธิ์, พจนีย์ พ่วงพินิจ, สายัณห์ ผุดวิวัฒน์. 2551. “การศึกษาการฆ่าเชื้อแบคทีเรียโดยการฉายแสงบนฟิล์มไททาเนียมไดออกไซด์โครงสร้างระดับนาโน.” หน้า 464,470 *การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46*. กรุงเทพฯ :
- [9] Tzu-Ying Lai, Wen-Chien Lee. 2009. “Killing of Cancer Cell Line by Photoexcitation of Folic Acid-Modified Titanium Dioxide Nanoparticles” *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 204 (2009) : 148–153
- [10] Min-Chiao Tsai, Tsung-Lin Tsai, Dar-Bin Shieh, Hsin-Tien Chiu, and Chi-Young Lee. 2009. “Detecting HER2 on Cancer Cells by TiO<sub>2</sub> Spheres Mie Scattering.” *Analytical Chemistry*. 81(2009) : 7590–7596
- [11] Dhaneswar Das, Bikash Chandra Nath, Pinkee Phukon, Amarjyoti kalita, Swapan Kumar Dolui. 2013. “Synthesis of ZnO Nanoparticles And Evaluation Of Antioxidant And Cytotoxic Activity.” *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 111(2013) : 556 – 560

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- [12] Rizwan Wahab, Maqsood. Siddiqui, Quaiser Saquib, Sourabh Dwivedi, Javed Ahmad, Javed Musarrat, Abdulaziz. Al-Khedhairi, Hyung-Shik “ZnO nanoparticles induced oxidative stress and apoptosis in HepG2 and MCF-7 cancer cells and their antibacterial activity.” *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 117 (2014) : 267 – 276
- [13] Han B. Man, Hansung Kim, Ho-Joong Kim, Erik Robinson, Wing Kam Liu, Edward Kai-Hua Chow, Dean Ho. “Synthesis Of Nanodiamond – Daunorubicin Conjugates To Overcome Multidrug Chemoresistance In Leukemia.” *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*. 10 (2014) : 359–369





เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

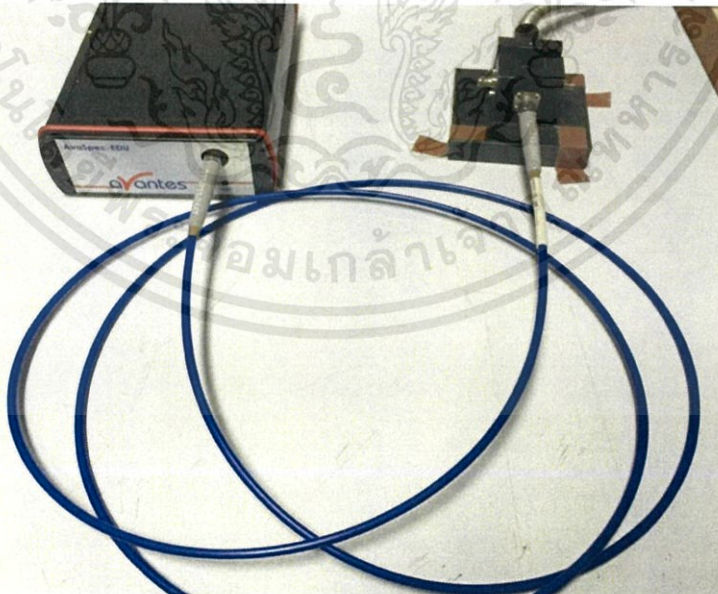
## ภาคผนวก

วิธีใช้โปรแกรม Avasoft 7.4.0 Basic

1. ต่อสายไฟจากหลอด Tungsten (SCHOTT) เข้ากับแท่นวางตัวอย่าง

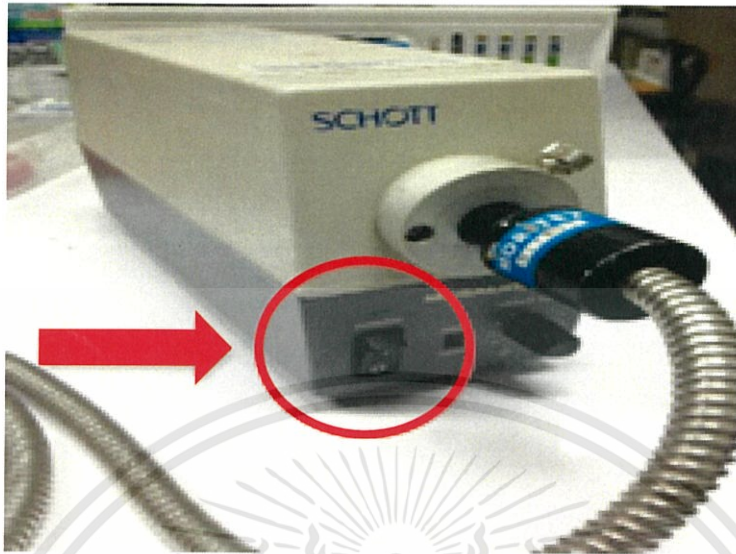


2. ต่อสาย Optic Fiber ขนาด 600  $\mu\text{m}$  เข้าระหว่างแท่นวางตัวอย่างกับเครื่อง UV-Vis-NIR Spectrometer แล้วต่อสาย USB จากเครื่อง UV-Vis-NIR Spectrometer เข้ากับ Computer

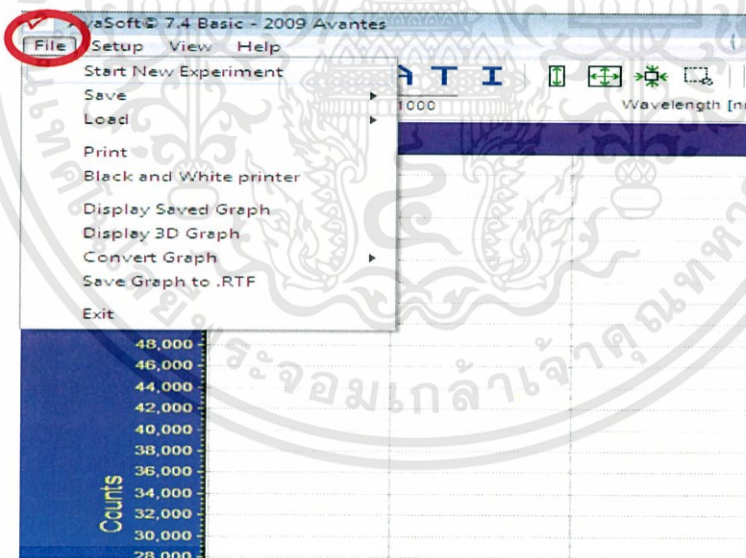


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เปิดสวิตช์แหล่งกำเนิดแสง Tungsten (SCHOTT) แล้วรอ 15 - 30 นาที เพื่อทำการ Warm up

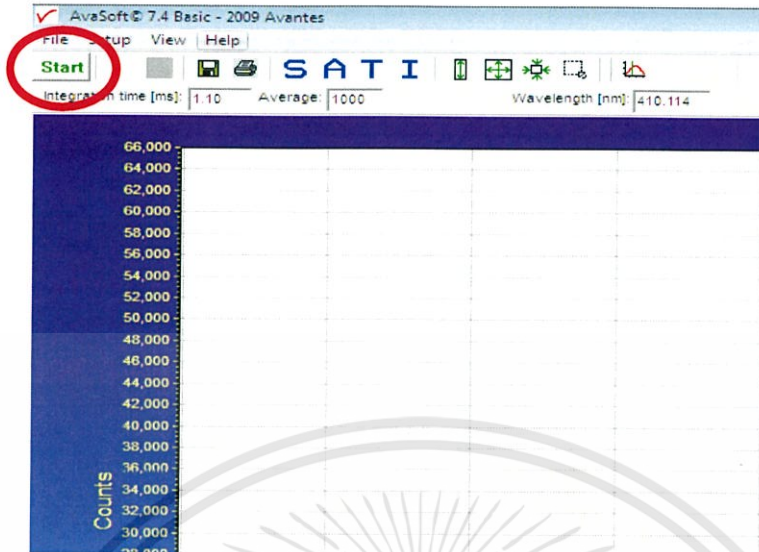


- เปิดโปรแกรม Avasoft 7.4.0 Basic
- ไปที่ File แล้วกด Start New Experiment แล้วเลือก Folder ที่ต้องการบันทึกงาน

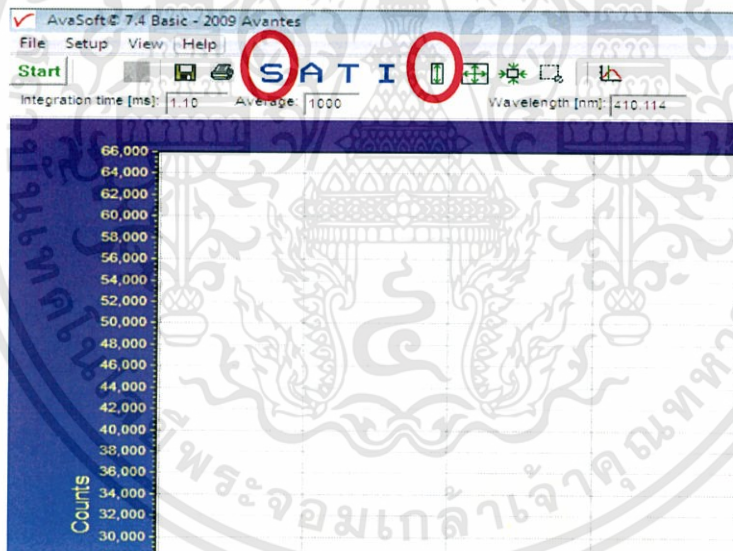


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. กดปุ่ม Start ที่โปรแกรม Avasoft 7.4.0 Basic

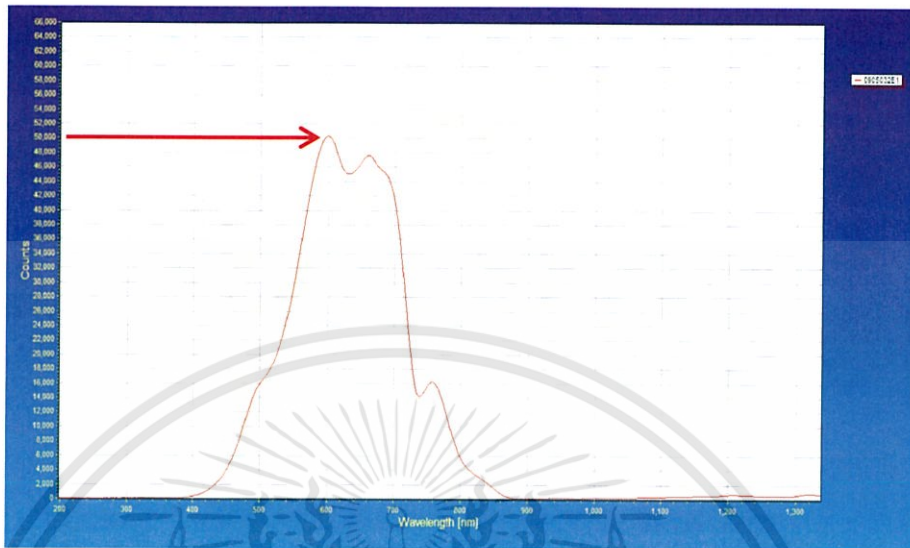


7. กดปุ่ม S และ Auto Scale ที่โปรแกรม Avasoft 7.4.0 Basic

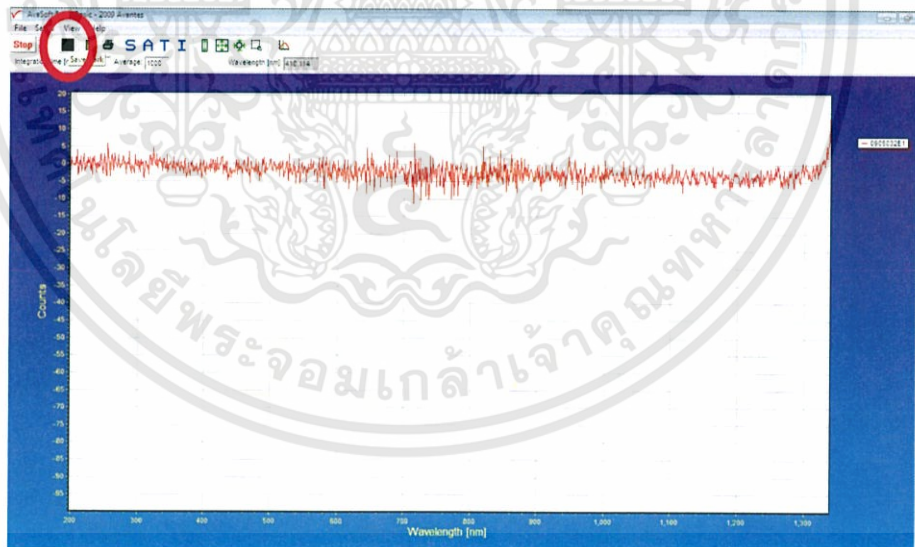


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. ทำการปรับความเข้มแสงของหลอด Tungsten จนได้ความเข้มแสงเข้าประมาณ 50,000 counts

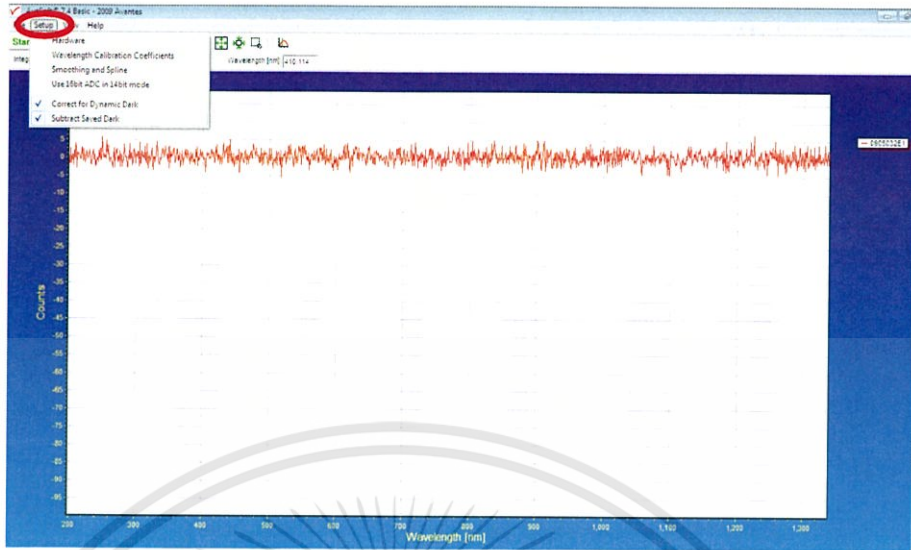


9. ปิดทางเดินแสงที่เข้าเครื่อง UV-Vis-NIR Spectrometer (ถอดสาย Optic Fiber ออก แล้วปิดฝาจุกสีแดง) เช็คสัญญาณว่าไม่มีแสงเข้า กด Save Dark

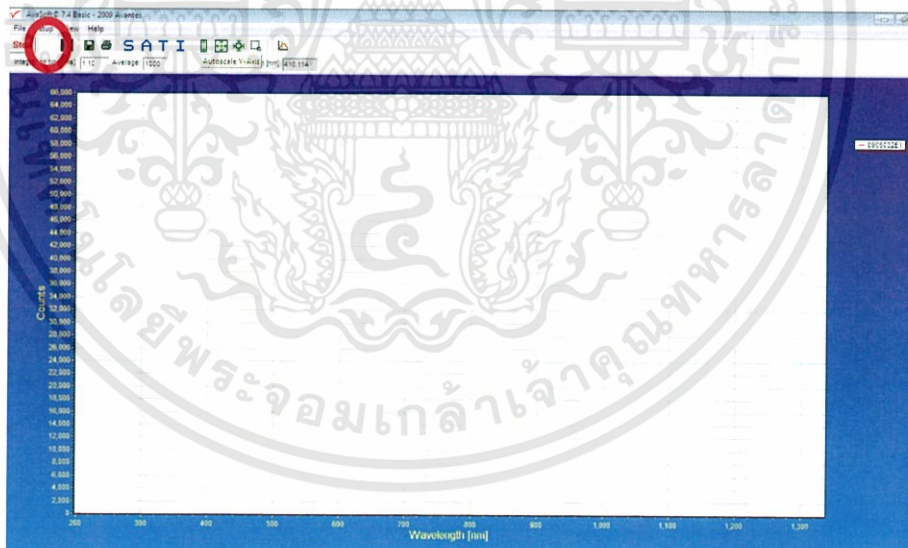


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 10. กดปุ่ม Set up เลือก Subtract Saved Dark แล้วต่อสาย Optic Fiber เข้าที่เดิม

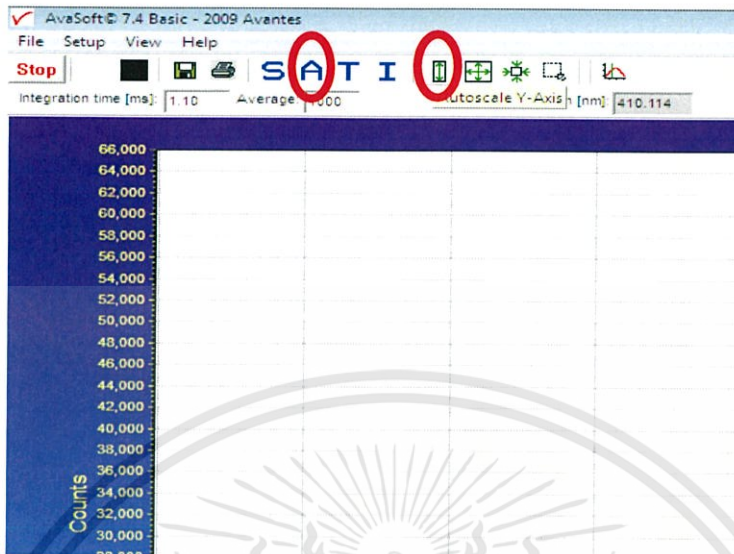


11. นำสารละลายที่ต้องการวัดที่ไม่มีสารตัวอย่างหรือน้ำ DI นำมาใส่ใน Cuvette เพื่อเป็นตัว Blank จากนั้นนำมาใส่บนแท่งวางสาร โดยหันด้าน Cuvette ที่มีลูกศรเข้าหาเครื่องกำเนิดแสงเพื่อวัด White Mode (โดยกดปุ่มสี่เหลี่ยมสีขาว)

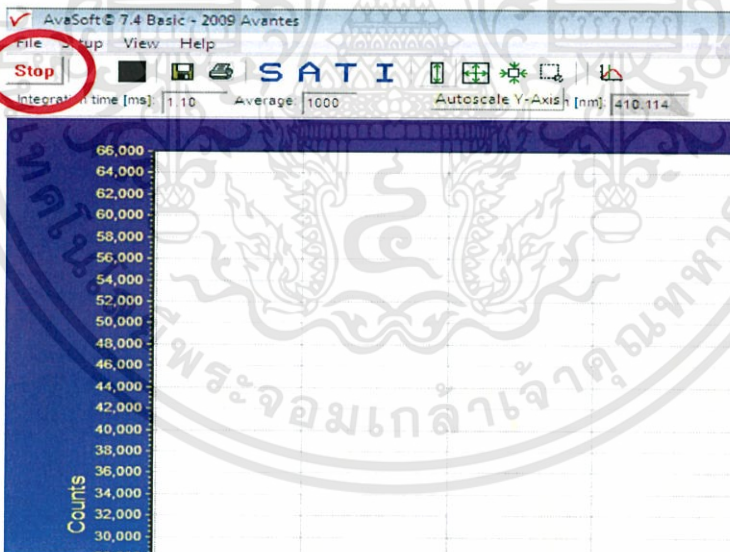


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

12. นำสารละลายตัวอย่างที่ต้องการวัด (Sample) ใส่ใน Cuvette จากนั้นนำไปใส่บนแท่งวาง Cuvette เพื่อวัดค่า Absorbance (กดปุ่มตัวเอใหญ่ A และกดปุ่ม Auto Scale)

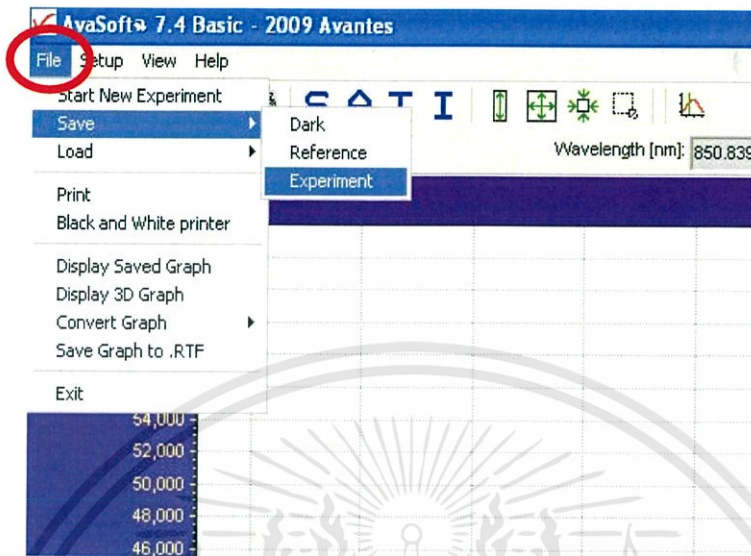


13. เมื่อได้ขนาดกราฟที่เหมาะสมให้กดปุ่ม Stop และหากต้องการวัดสารตัวอื่น กดปุ่ม Start อีกครั้ง

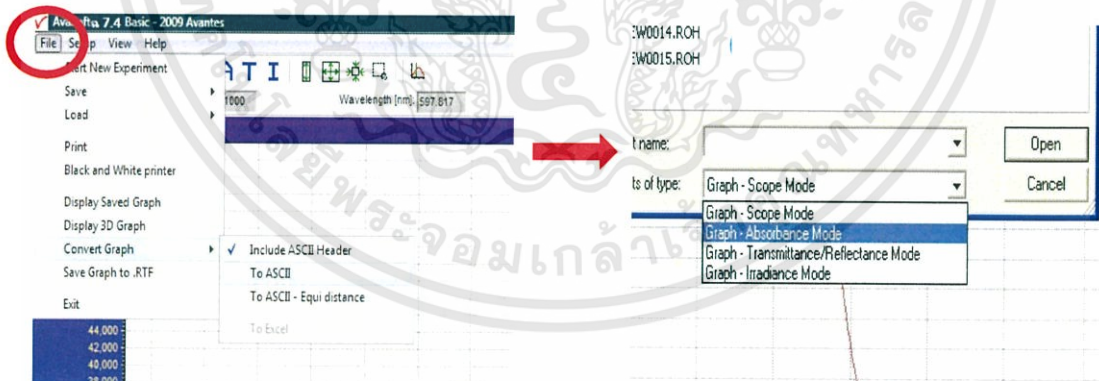


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

14. ทำการ Save File โดยกดปุ่ม Save แล้วเลือก Experiment ตั้งชื่อ File ตามต้องการ โดย File ที่ได้จะเป็น .ABS



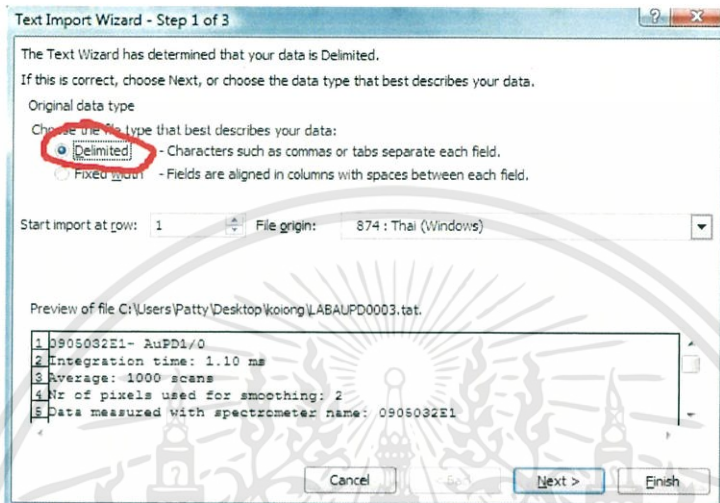
15. ทำการแปลงไฟล์จาก .ABS เป็น .tat โดยคลิกที่ File เลือก Convert Graph และเลือก To ASCII จากนั้นเลือก Object of Type เป็น Graph - Absorbance Mode เลือกไฟล์ .ABS ที่ต้องการแล้วกด Open จะได้ไฟล์ .tat เพื่อนำไฟล์ที่ได้ไปเปิดในโปรแกรม Excel



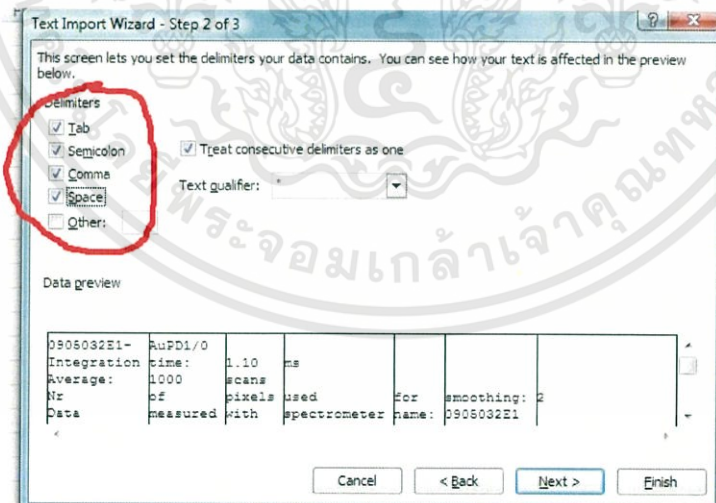
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

16. เมื่อบันทึกข้อมูลเสร็จให้เก็บอุปกรณ์โดยปิดตัวกำเนิดแสงก่อน แล้ว Disconnect USB จาก Computer จากนั้นเก็บสาย Optic Fiber ให้เรียบร้อย

17. เปิดโปรแกรม Excel แล้วไปที่ Open File เลือกไฟล์ .tat ที่ Save ไว้ แล้วเลือก Delimited แล้วกด Next



18. กดเลือก Tab, Semicolon, Comma, Space แล้วกด Next และกด Finish



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

19. ทำการทดลองซ้ำจากข้อ 12 – 18

20. จากนั้นนำข้อมูลที่ได้อาเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Absorbance กับ Wavelength โดยเลือกใช้กราฟแบบการกระจาย (Scatter)

	B	C	D	E	F	G	H
1	[nm]	[counts]	[counts]	[counts]	1.28		
2	198.42	0.621	52.104	11.807	0.663		
3	199.02	0.927	56.437	13.79	0.635		
4	199.62	1.486	59.314	16.676	0.5806		
5	200.21	3.302	58.418	13.085	0.7508		
6	200.81	3.468	56.903	13.18	0.7405		
7	201.41	3.012	57.238	14.01	0.6929		
8	202.01	-0.236	57.92	10.726	0.7247		
9	202.6	0.22	54.664	14.092	0.5938		
10	203.2	1.837	54.352	10.799	0.7679		
11	203.8	0.381	56.658	12.389	0.6709		
12	204.4	0.219	55.12	10.766	0.7165		
13	204.99	0.479	51.363	11.161	0.6779		
14	205.59	-0.061	54.678	12.198	0.6498		
15	206.19	1.118	55.055	11.155	0.7303		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้