



## รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การพัฒนาชุดเครื่องมือต้นแบบสำหรับตรวจวัดซีสเทอีนในอาหารเสริมแบบ  
อัตโนมัติโดยใช้อนุภาคทองคำนาโนเป็นเซนเซอร์ในการตรวจวัด

Development of prototype for automated determination of cysteine in food  
supplements using gold nanoparticles as detection sensor

ผศ. ดร. ณัฐวดี เชิงชั้น

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัย จากเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2561

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง



## รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การพัฒนาชุดเครื่องมือต้นแบบสำหรับตรวจวัดซิสเทอีนในอาหารเสริมแบบ  
อัตโนมัติโดยใช้อนุภาคทองคำนาโนเป็นเซนเซอร์ในการตรวจวัด

**Development of prototype for automated determination of cysteine in food  
supplements using gold nanoparticles as detection sensor**

ผศ. ดร. ณัฐวุฒิ เชิงชัน

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัย จากเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2561

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) การพัฒนาชุดเครื่องมือต้นแบบสำหรับตรวจวัดซีสเทอีนในอาหารเสริมแบบ  
อัตโนมัติโดยใช้อนุภาคทองคำนาโนเป็นเซนเซอร์ในการตรวจวัด  
แหล่งเงิน ทุนวิจัยเงินรายได้คณะวิทยาศาสตร์  
ประจำปีงบประมาณ 2561 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 350,000 บาท  
ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2560 ถึง 30 กันยายน 2561  
ชื่อ-สกุล หัวหน้าโครงการ ผศ. ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชั้น  
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร  
ลาดกระบัง

### บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้ได้พัฒนาชุดเครื่องมือต้นแบบสำหรับตรวจวัดซีสเทอีนในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารแบบ  
อัตโนมัติโดยใช้อนุภาคทองคำนาโน (AuNPs) เป็นเซนเซอร์ในการตรวจวัด หลักการตรวจวัดอาศัยการเกิด  
อันตรกิริยาระหว่างซีสเทอีนกับ AuNPs ในการดำเนินการทดลองได้ใช้ระบบการวิเคราะห์แบบการไหล  
เป็นลำดับ (SIA) และโปรแกรมควบคุมการทำงานที่พัฒนาขึ้น ผลการศึกษาพบว่าได้ช่วงความเป็น  
เส้นตรงอยู่ในช่วง 0 – 40 ไมโครโมลาร์ (ค่าคอคกลืนแสง =  $0.003[\text{ซีสเทอีน}] + 0.044$ ) โดยมีค่า  
สัมประสิทธิ์การตัดสินใจ ( $r^2$ ) เท่ากับ 0.991 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ต่ำกว่าร้อยละ 0.5 ค่าร้อยละการ  
วิเคราะห์คืนกลับอยู่ในช่วงร้อยละ 96.0 – 106.0 มีค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดและขีดจำกัดต่ำสุด  
ของการวิเคราะห์เชิงปริมาณเท่ากับ 0.11 และ 0.36 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ เมื่อนำวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้มา  
ประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณซีสเทอีนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร และเปรียบเทียบผลการ  
วิเคราะห์กับค่าที่ระบุข้างฉลากไม่แตกต่างกัน จากผลการทดลองทั้งหมดสรุปได้ว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้มี  
ความแม่นยำและความเที่ยงสูง อีกทั้งยังเป็นวิธีที่ง่าย รวดเร็ว และสามารถประยุกต์ใช้ในการตรวจวัด  
ซีสเทอีนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำสำคัญ : ระบบการวิเคราะห์แบบการไหลเป็นลำดับ, อนุภาคทองคำนาโน, ซีสเทอีน, ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

**Research Title:** Development of prototype for automated determination of cysteine in food supplements using gold nanoparticles as detection sensor

**Grant:** Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

**Fiscal year:** 2018 (350,000 THB)

**Period:** 1 year (1 October 2017 – 30 September 2018)

**Researcher:** Asst. Prof. Dr. Nathawut Choengchan

**Faculty:** Science      **Department:** Chemistry

---

### ABSTRACT

This work presents prototype for automated determination of cysteine in food supplements using gold nanoparticles (AuNPs) as detection sensor. Detection principle is based on interaction between cysteine and AuNPs. The detection procedure was carried out using the developed sequential injection analysis (SIA) system with the 'in-lab' control program. Working range was observed from 1 to 500  $\mu\text{M}$  ( $\text{Abs} = 0.003[\text{Cysteine}] + 0.044$ ) with good linearity ( $r^2 > 0.991$ ). The RSD were lower than 0.5 %. Analytical recoveries were observed in range 96.0 – 106.0 %. The limit of detection and limit of quantitation were 0.11 and 0.36  $\mu\text{M}$ , respectively. The method was applied to cysteine dietary supplements. The results were compared to the label values and they agreed very well. These results implied that the developed method was high accurate. The developed method was successfully applied for determination of cysteine in dietary products.

**Keywords :** Sequential injection analysis, gold nanoparticles, cysteine, dietary supplement

## กิตติกรรมประกาศ

การดำเนินงานวิจัยตามโครงการนี้ สำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์ได้เป็นอย่างดี เนื่องจากได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจาก ทุนวิจัย เงินรายได้ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.2561 ผู้วิจัยต้องขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

ขอขอบคุณ นายอาจณรงค์ เมธาวิสรรเสริญ นักศึกษาปริญญาเอก สาขาวิชาเคมีประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่มีส่วนสำคัญอย่างยิ่งในการพัฒนาและทดสอบประสิทธิภาพของชุดเครื่องมือต้นแบบสำหรับตรวจวัดชีสเทอีนในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารแบบอัดโนมัตินี้ โดยทุ่มเททำงานวิจัยนี้ด้วยดีตลอดมา ตั้งแต่เริ่มต้นจนถึงสิ้นสุดโครงการ

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณหน่วยวิจัยเคมีวิเคราะห์เชิงประยุกต์ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ เครื่องมือและอุปกรณ์ในการดำเนินงานตลอดงานวิจัย

ผศ. ดร.ณัฐวุฒิ เจริญชัน

หัวหน้าโครงการวิจัย

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญรูปภาพ.....	ฅ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 หลักการและเหตุของโครงการวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย.....	3
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย.....	3
1.4 วิธีดำเนินการวิจัย.....	5
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	6
บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	7
2.1 ซีสเทอีน.....	7
2.1.1 ข้อมูลทั่วไป.....	7
2.1.2 คุณลักษณะ.....	7
2.1.3 แหล่งที่พบ.....	7
2.1.4 ประโยชน์.....	8
2.2 อนุภาคทองระดับนาโน (Gold nanoparticles).....	8
2.2.1 ข้อมูลทั่วไป.....	8
2.2.2 สมบัติทางแสง.....	9
2.2.3 การสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโน.....	10
2.2.4 การตรวจสอบคุณลักษณะของอนุภาคทองระดับนาโน.....	12
2.2.5 การประยุกต์ใช้อนุภาคทองระดับนาโนสำหรับการวิเคราะห์ทางเคมี.....	13
2.3 หลักการวิเคราะห์แบบซีเควนเชียลอินเจกชัน (Sequential Injection Analysis, SIA).....	14
2.4 การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	15

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 3 วิธีดำเนินการ.....	19
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์.....	19
3.1.1 สารเคมี.....	19
3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องตรวจวัด.....	19
3.2 การเตรียมสารละลาย.....	20
3.2.1 การเตรียมสารละลายกรดเตตระคลอโรอริกเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์.....	20
3.2.2 การเตรียมสารละลายไตรโซเดียมซิเตรตเข้มข้น 38.8 มิลลิโมลาร์.....	20
3.2.3 การเตรียมสารละลายอนุภาคทองระดับนาโน.....	20
3.2.4 การเตรียมสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.0 โมลาร์.....	21
3.2.5 การเตรียมสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 โมลาร์.....	21
3.2.6 การเตรียมสารละลายมาตรฐานซีสเทอีนเข้มข้น 1.0 มิลลิโมลาร์.....	21
3.2.7 การเตรียมสารละลายมาตรฐานซีสเทอีนเข้มข้น 5, 10, 20, 30 และ 40 ไมโครโมลาร์.....	21
3.2.8 การเตรียมสารละลายไตรโซเดียมซิเตรตเข้มข้น 10.0 มิลลิโมลาร์.....	21
3.2.9 การเตรียมสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 10.0 มิลลิโมลาร์.....	21
3.2.10 การเตรียมสารละลายซิเตรตบัฟเฟอร์พีเอช 4.5, 5.0, 5.5 และ 6.....	22
3.2.11 การเตรียมสารละลายตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารเสริมซีสเทอีน.....	22
3.2.12 การเตรียม spiked sample.....	22
3.3 วิธีการทดลอง.....	23
3.3.1 การตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโน.....	23
3.3.2 การศึกษากลไกการตรวจวัดซีสเทอีนด้วย AuNPs.....	23
3.3.3 การออกแบบระบบ Sequence Injection Analysis.....	24
3.3.4 โปรแกรมควบคุมการทำงานของระบบ SIA.....	24
3.3.5 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดซีสเทอีนด้วย AuNPs โดยใช้ระบบ SIA.....	24
3.3.5.1 ศึกษาพีเอชของสารละลาย AuNPs ที่เหมาะสม.....	24
3.3.5.2 ศึกษาความเข้มข้นของสารละลาย AuNPs ที่เหมาะสม.....	24
3.3.5.3 ศึกษาความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่เหมาะสม.....	25
3.3.5.4 ศึกษาความยาวของ mixing coil ที่เหมาะสม.....	25
3.3.6 การศึกษาคุณลักษณะของวิธีวิเคราะห์.....	25
3.3.6.1 ศึกษาความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัดซีสเทอีนด้วย AuNPs โดยใช้ระบบ SIA.....	25

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.3.6.2 ศึกษาความเที่ยงของการวิเคราะห์.....	26
3.3.6.3 ศึกษาความแม่นยำของวิธี.....	26
3.3.6.4 ศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of detection, LOD) และ ขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ).....	26
3.3.6.5 ศึกษาความจำเพาะเจาะจงของวิธีที่พัฒนาขึ้น (Selectivity).....	26
3.3.7 การประยุกต์ใช้ในการหาตรวจวัดหาปริมาณซีสเทอีนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร.....	27
<b>บทที่ 4 ผลการวิจัย.....</b>	<b>28</b>
4.1 การสังเคราะห์อนุภาคทองคำระดับนาโน.....	28
4.2 ศึกษากลไกการตรวจวัดซีสเทอีนด้วย AuNPs.....	28
4.3 การออกแบบระบบ Sequence Injection Analysis.....	30
4.4 การพัฒนาโปรแกรมควบคุมการทำงานของระบบ SIA.....	31
4.4.1 การออกแบบ โปรแกรมควบคุมการทำงานของระบบ SIA.....	31
4.4.2 การทดสอบการทำงานของโปรแกรมควบคุมที่พัฒนาและระบบ SIA ออกแบบ.....	31
4.5 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดซีสเทอีนด้วย AuNPs โดยใช้ระบบ SIA.....	32
4.5.1 ศึกษาพีเอชของสารละลาย AuNPs ที่เหมาะสม.....	32
4.5.2 ศึกษาความเข้มข้นของสารละลาย AuNPs ที่เหมาะสม.....	33
4.5.3 ศึกษาความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่เหมาะสม.....	34
4.5.4 ศึกษาความยาวของ mixing coil ที่เหมาะสม.....	35
4.6 การศึกษาคูณลักษณะของวิธีวิเคราะห์.....	37
4.6.1 ศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัดซีสเทอีนด้วย AuNPs โดยใช้ระบบ SIA.....	37
4.6.2 ศึกษาความเที่ยงของการวิเคราะห์.....	37
4.6.3 ศึกษาความแม่นยำของวิธี.....	38
4.6.4 ศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of detection, LOD) และ ขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ).....	39
4.6.5 ศึกษาความจำเพาะเจาะจงของวิธีที่พัฒนาขึ้น (Selectivity).....	39
4.7 การประยุกต์ใช้ในการหาตรวจวัดหาปริมาณซีสเทอีนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร.....	40

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	42
เอกสารอ้างอิง.....	43
ภาคผนวก สรุปค่าใช้จ่ายการดำเนิน โครงการวิจัย.....	45
ประวัตินักวิจัย.....	47

---

---

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ตารางแสดงปริมาณซีสเทอีนในอาหารชนิดต่างๆ.....	8
3.1 ชุดคำสั่งควบคุมการทำงานของระบบ SIA ในการตรวจวัดซีสเทอีน.....	24
4.1 สรุปปัจจัยที่ศึกษาและสภาวะที่เหมาะสมในการทดลอง.....	36
4.2 แสดงค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของการตรวจวัดซีสเทอีนด้วย AuNPs โดยใช้ระบบ SIA.....	37
4.3 แสดงค่าร้อยละการวิเคราะห์หาค่ากลับของวิธี.....	38
4.4 เปรียบเทียบผลการตรวจวัดหาปริมาณซีสเทอีนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร แสดงค่าร้อยละการวิเคราะห์หาค่ากลับของวิธี.....	40
4.5 แสดงการเปรียบเทียบผลลัพธ์วิเคราะห์โดยใช้การทดสอบ Paired t-test.....	40

## สารบัญรูปภาพ

รูปที่	หน้า
1.1 กลไกการรวมตัวกันของอนุภาคทองคำนาโนกับซีสเทิน.....	3
1.2 ระบบ SIA ที่ใช้พัฒนาเป็นเครื่องมือต้นแบบสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณซีสเทินในอาหารเสริม.....	4
1.3 รูปถ่ายชุดเครื่องมือต้นแบบสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณซีสเทินที่คาดว่าจะพัฒนา.....	5
2.1 กระบวนการสั่นของพลาสมอน (plasmon oscillation) สำหรับอนุภาคทรงกลม.....	9
2.2 การสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนโดยวิธี Top-down และ Bottom-up.....	10
2.3 อนุภาคทองระดับนาโนที่มีขนาดอนุภาคต่างกัน.....	11
2.4 รูปถ่าย TEM ของอนุภาคทองระดับนาโน.....	12
2.5 ระบบซีควนเชียลอินเจกชัน (SIA).....	15
4.1 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโน (AuNPs) ที่สังเคราะห์ได้ และรูปแทรกภายในแสดงสีของสารละลายอนุภาคทองคำนาโน.....	28
4.2 กลไกการรวมตัวกันของอนุภาคทองระดับนาโนกับซีสเทิน.....	29
4.3 ก. Surface plasmon band ของสารละลาย AuNPs เมื่อมีซีสเทินที่ความเข้มข้น 0 - 200 ไมโครโมลาร์ และ ข. กราฟมาตรฐานของซีสเทินเมื่อพลอตระหว่างอัตราส่วนค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ต่อ 524 นาโนเมตร กับ ความเข้มข้นซีสเทิน.....	29
4.4 ระบบ SIA ที่ใช้พัฒนาเป็นเครื่องมือต้นแบบสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณซีสเทินในอาหารเสริม.....	30
4.5 ส่วนประกอบต่างๆ ของโปรแกรมคอมพิวเตอร์ที่พัฒนาขึ้นสำหรับการใช้ควบคุมระบบ SIA.....	31
4.6 ก. แสดง Peak profile ของสารละลายน้ำสีแดง ติดตามที่ 508 nm และ ข. กราฟมาตรฐาน.....	32
4.7 ก. กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานซีสเทินที่ความเข้มข้น 0, 5, 10 และ 20 ไมโครโมลาร์ เมื่อทำการตรวจวัดที่พีเอชต่างๆ โดยพล็อตระหว่างความเข้มข้นของซีสเทินกับค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร และ ข. กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า Sensitivity กับพีเอชของสารละลาย AuNPs.....	32
4.8 ก. กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานซีสเทินที่ความเข้มข้น 0, 5, 10, 20, 30 และ 40 ไมโครโมลาร์ เมื่อทำการตรวจวัดโดยใช้สารละลาย AuNPs ที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยพล็อตระหว่างความเข้มข้นของซีสเทินกับค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร และ ข. กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า Sensitivity กับความเข้มข้นของสารละลาย AuNPs.....	33
4.9 ก. กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานซีสเทินที่ความเข้มข้น 0, 5, 10, 20, 30 และ 40 ไมโครโมลาร์ เมื่อทำการตรวจวัดโดยใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยพล็อตระหว่างความเข้มข้นของซีสเทินกับค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร และ ข. กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า Sensitivity กับความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรด์.....	34

4.10 Peak profile ของสารละลายมาตรฐานซีสเทอีนที่ความเข้มข้น 0, 5, 10, 20, 30 และ 40 ไมโครโมลาร์ โดยที่ ก. – ง. ใช้ Mixing coil ขนาด 50, 100, 150 และ 200 เซนติเมตร ตามลำดับ.....	35
4.11 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานซีสเทอีนที่ความเข้มข้น 0, 5, 10, 20, 30 และ 40 ไมโครโมลาร์ เมื่อใช้ Mixing coil ขนาด 50, 100 และ 150 เซนติเมตร โดยพล็อตระหว่างความเข้มข้นกับ ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 nm.....	36
4.12 ก. Peak profile ของสารละลายมาตรฐานซีสเทอีนที่ความเข้มข้น 0, 5, 10, 15, 20, 30 และ 40 ไมโครโมลาร์ ข. กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานซีสเทอีน โดยพล็อตระหว่างความเข้มข้นกับ ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 nm.....	37
4.13 กราฟแท่งพล็อตเทียบระหว่างอัตราส่วนค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร กับตัวรบกวนต่างๆ.....	39

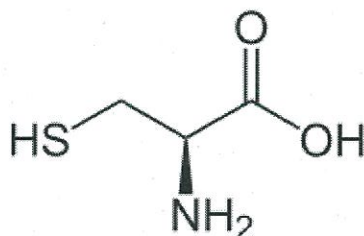
## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 หลักการและเหตุของโครงการวิจัย

ซิสเทอีน หรือ แอล-ซิสเทอีน (โครงสร้างแสดงดังรูปที่ 1) เป็นกรดอะมิโนชนิดไม่จำเป็นชนิดหนึ่งที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ ซิสเทอีนมีบทบาทสำคัญและมีประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์ คือ เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์โปรตีน ช่วยเสริมความแข็งแรงของโครงสร้างโปรตีนเคราติน (Keratin) ที่ใช้ในการสร้างผิว ผม เล็บ ช่วยให้รากผมแข็งแรงไม่หลุดร่วงง่าย ช่วยกำจัดสารพิษในร่างกาย และปกป้องเซลล์จากอนุมูลอิสระ [1] อันเป็นสาเหตุก่อให้เกิดโรคมะเร็ง ซิสเทอีนเป็นกรดอะมิโนที่มีเอกลักษณ์เฉพาะตัวคือมีหมู่ thiol (-SH) ที่สามารถเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ได้ ซึ่งหมู่ thiol นี้ มีความสามารถในการจับกับโลหะหนัก เช่น ปรอท ตะกั่ว และแคดเมียม เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนได้ดี จากนั้นสารประกอบเชิงซ้อนเหล่านี้จะถูกกำจัดออกจากร่างกาย นอกจากนี้ซิสเทอีนยังเป็นสารตั้งต้นในการสร้างกลูตาไธโอน โดยจะสร้างพันธะกับ ไกลซีน (Glycine) และ

กรดกลูตามิก (Glutamic acid) เกิดเป็นกลูตาไธโอน ซึ่งมีบทบาทสำคัญต่อร่างกาย คือ เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และช่วยยับยั้งการสร้างเม็ดสีผิวสีดำหรือน้ำตาล [2]



รูปที่ 1 สูตรโครงสร้างของซิสเทอีน

ที่มา: <http://en.wikipedia.org/wiki/Cysteine>

ซิสเทอีนสามารถพบได้ในอาหารจำพวกโปรตีน เช่น ถั่วเหลือง เนื้อสัตว์ นม และไข่ แต่ก็มีอยู่ในปริมาณน้อยมาก จำเป็นต้องบริโภคอาหารเหล่านี้จำนวนมากถึงจะเพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย ปัจจุบันจึงได้มีการอุตสาหกรรมดำเนินการผลิตซิสเทอีนออกมาในรูปแบบอาหารเสริมเพื่อตอบสนองต่อความต้องการของผู้บริโภค โดยสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาได้มีประกาศเรื่อง ข้อกำหนดการใช้ส่วนประกอบที่สำคัญของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารชนิดกรดอะมิโน เพื่อป้องกันอันตรายต่อผู้บริโภคไม่ให้ได้รับสารอาหารเกินขนาด โดยได้กำหนดให้ใช้ซิสเทอีนเป็นส่วนประกอบในอาหารเสริมได้ไม่เกิน 500 มิลลิกรัม [3] ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่ต้องตรวจวัดหาปริมาณซิสเทอีนในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

เพื่อให้เป็นไปตามข้อกำหนดของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา และเพื่อเป็นการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์

วิธีการวิเคราะห์เชิงปริมาณโดยทั่วไปที่นิยมใช้ในการหาปริมาณซีสเทอีน คือ High performance liquid chromatography หรือ HPLC ซึ่งให้ผลวิเคราะห์ที่แม่นยำ มีความจำเพาะเจาะจงสูง สามารถแยกซีสเทอีนออกจากสารประเภทอื่นๆ ในตัวอย่าง และหาปริมาณได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่ข้อจำกัดของวิธีทางโครมาโทกราฟี คือ ใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน ดังนั้นจึงไม่เหมาะสำหรับการวิเคราะห์หากมีตัวอย่างอาหารเสริมจำนวนมาก

จากข้อจำกัดของวิธีโครมาโทกราฟี ในโครงการวิจัยนี้ จึงจะพัฒนาชุดเครื่องมือต้นแบบโดยอาศัยหลักการของเทคนิค Sequential injection analysis หรือ SIA [4] ซึ่งเอื้ออำนวยให้ขั้นตอนในการวิเคราะห์เป็นแบบอัตโนมัติ โดยจะพัฒนาชุดเครื่องมือให้มีประสิทธิภาพทัดเทียมวิธีโครมาโทกราฟี กล่าวคือ ยังคงมีความถูกต้อง และจำเพาะเจาะจงสูง แต่ใช้เวลาในการวิเคราะห์ที่เร็วกว่า สามารถควบคุมการทำงานของเครื่องมือด้วยโปรแกรมที่จะพัฒนาขึ้นเอง โดยในโครงการวิจัยนี้

นอกจากจะพัฒนาชุดเครื่องมือต้นแบบแล้ว ยังจะพัฒนาหลักการตรวจวัดซีสเทอีนอีกด้วย โดยปัจจุบันอนุภาคทองคำนาโนได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก (ด้วยมีคุณสมบัติทางแสงที่เด่นชัดที่แตกต่างจากทองแบบก้อน ซึ่งเป็นผลมาจากปรากฏการณ์ Surface plasmon resonance กล่าวคือ ทองคำเมื่ออยู่ในรูปก้อนขนาดใหญ่จะมีสีเหลือง แต่ถ้าถูกทำให้มีขนาดเล็กในระดับนาโนเมตรจะมีสีแดงและจะเห็นเป็นสีม่วงเมื่ออนุภาคมีขนาดที่ใหญ่ขึ้น) เนื่องด้วยขนาดของอนุภาคทองคำนาโนที่เล็กมาก ทำให้มีพื้นที่ผิวสูงซึ่งสามารถเกิดอันตรกิริยากับสารบางชนิดบนพื้นผิวของอนุภาคแล้วเกิดการเหนี่ยวนำให้อนุภาคทองรวมตัวกัน (Aggregation) ส่งผลให้อนุภาคมีขนาดใหญ่ขึ้น ทำให้สารละลายอนุภาคทองคำนาโนเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีม่วงและน้ำเงินตามขนาดที่ใหญ่ขึ้น นอกจากนี้ อนุภาคทองคำนาโน ยังมีข้อดีมากกว่าอนุภาคนาโนของโลหะชนิดอื่น ตรงที่มีความเสถียรมากกว่า ด้วยข้อดีเหล่านี้จึงมีการนำอนุภาคทองคำนาโนไปประยุกต์ใช้เป็นเซนเซอร์ตรวจวัดเป็นจำนวนมาก

จากข้อดีของระบบ SIA ที่มีความเป็นอัตโนมัติและใช้เวลาในการวิเคราะห์ที่รวดเร็ว และข้อดีของอนุภาคทองคำนาโนที่มีคุณสมบัติในการเปลี่ยนสีที่ชัดเจน ในโครงการวิจัยนี้จึงจะพัฒนาชุดเครื่องมือต้นแบบโดยอาศัยระบบ SIA ร่วมกับการใช้อนุภาคทองคำนาโนเป็นเซนเซอร์และตรวจวัดด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ในการวิเคราะห์หาปริมาณซีสเทอีนในอาหารเสริม ซึ่งเป็นวิธีที่ง่าย รวดเร็ว และมีความถูกต้อง แม่นยำสูง สามารถตรวจวัดได้คราวละหลายตัวอย่าง เหมาะสำหรับงานวิเคราะห์เพื่อควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ซึ่งมีตัวอย่างเป็นจำนวนมาก

## 1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

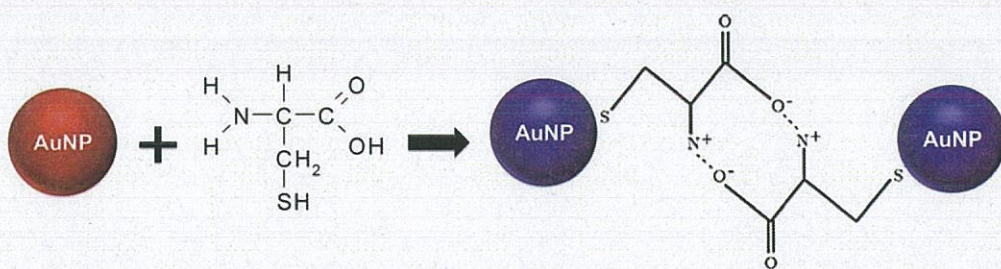
1.2.1 เพื่อพัฒนาชุดเครื่องมือต้นแบบสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณซิสเทอีนแบบอัตโนมัติ

1.2.2 เพื่อพัฒนาหลักการตรวจวัดปริมาณซิสเทอีนโดยใช้อนุภาคทองคำนาโนเป็นเซนเซอร์ในการตรวจวัด

1.2.3 เพื่อนำชุดเครื่องมือต้นแบบไปวิเคราะห์หาปริมาณซิสเทอีนในตัวอย่างอาหารเสริม

## 1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

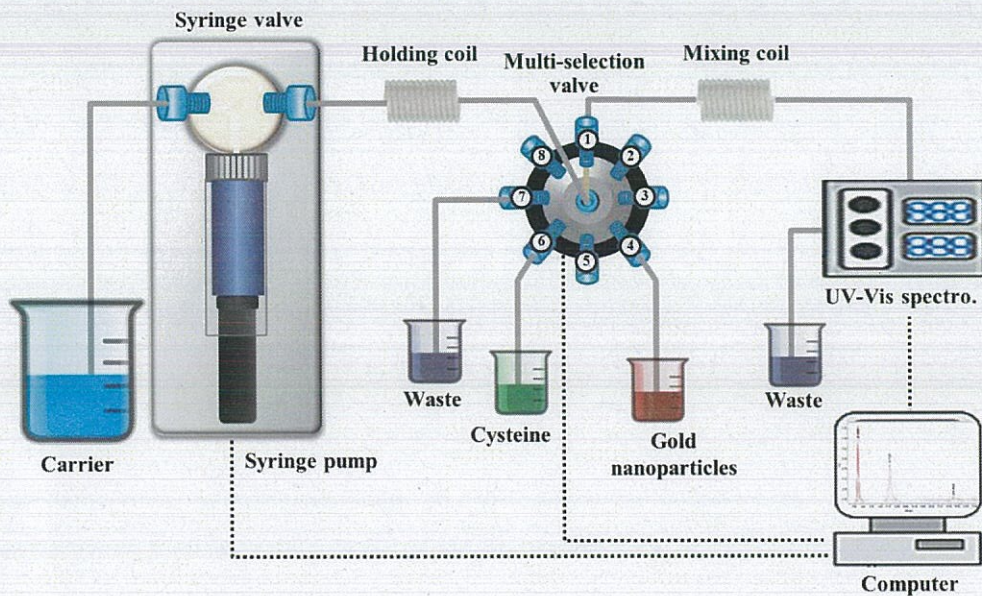
โครงการวิจัยนี้ จะเริ่มจากการสังเคราะห์อนุภาคทองคำนาโนด้วยวิธี Turkevich โดยอาศัยปฏิกิริยารีดักชันของกรดเตตระคลอโรอริก ( $\text{HAuCl}_4$ ) ด้วยไตรโซเดียมซิเตรต ซิเตรตไดออกไซด์จะทำหน้าที่เป็นทั้งตัวรีดิวซ์และสารรักษาเสถียรภาพของอนุภาคทองคำนาโน โดยในงานวิจัยนี้จะได้ศึกษาสภาวะในการสังเคราะห์ที่ส่งผลต่อขนาดของอนุภาคทองคำนาโน ได้แก่ ความเข้มข้นของกรดเตตระคลอโรอริก และความเข้มข้นของไตรโซเดียมซิเตรต จากนั้นจะศึกษาหลักการตรวจวัด โดยอาศัยการเกิดอันตรกิริยาระหว่างซิสเทอีนกับอนุภาคทองคำนาโน กล่าวคือ ในสภาวะที่ไม่มีซิสเทอีน อนุภาคทองคำนาโนจะไม่เกิดกลไกการรวมตัวกัน (Aggregation) ทำให้เห็นสารละลายตัวกลางมีสีแดง แต่ในสภาวะที่มีซิสเทอีน อนุภาคทองคำนาโนจะเกิดการรวมตัว ทำให้สีของสารละลายตัวกลางเปลี่ยนเป็นสีม่วง อันตรกิริยาระหว่างอนุภาคทองคำนาโนกับซิสเทอีนเป็นไปตามทฤษฎี Hard-Soft Acid-Base (HSAB) โดยที่หมู่ไทออล (-SH) ของซิสเทอีนจะเกิดอันตรกิริยากับพื้นผิวของอนุภาคทองคำนาโน และซิสเทอีนแต่ละโมเลกุลบนพื้นผิวอนุภาคจะดึงดูดกันด้วยแรงไฟฟ้าสถิต ส่งผลให้เกิดการเหนี่ยวนำให้เกิดการรวมตัวกันของอนุภาคทองคำนาโน ซึ่งกลไกการเกิดปฏิกิริยาแสดงดังรูปที่ 2



รูปที่ 1.1 กลไกการรวมตัวกันของอนุภาคทองคำนาโนกับซิสเทอีน

ในขั้นตอนการตรวจวัดนี้ จะทำการหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการการตรวจวัด (Optimization) โดยศึกษาปัจจัยทางเคมี เช่น พีเอชในการตรวจวัด ความเข้มข้นของสารละลายทองคำนาโน หลังจากนั้นจะได้นำสภาวะที่เหมาะสมไปใช้กับเครื่องมือต้นแบบอัตโนมัติที่จะพัฒนา โดยอาศัยระบบ SIA ดังรูปที่ 3 โดยใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์เป็นเครื่องตรวจวัด ในส่วนนี้จะเริ่มจาก

พัฒนาและทดสอบโปรแกรมที่ใช้ควบคุมการทำงานของเครื่องมือ จากนั้นจะนำโปรแกรมที่ผ่านการทดสอบแล้วมาทดลองใช้เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดของเครื่องมือ โดยศึกษาปัจจัยทางกายภาพ เช่น ความยาวของ mixing coil และปริมาตรในการดูดสารต่างๆเข้าสู่ระบบ เป็นต้น เมื่อเลือกสภาวะที่เหมาะสมได้แล้ว จะดำเนินการทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องมือในแง่ของความไวในการวิเคราะห์ ความเที่ยง ความแม่นยำ และขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด รวมถึงเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์



รูปที่ 1.2 ระบบ SIA ที่ใช้พัฒนาเป็นเครื่องมือต้นแบบสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณซีสเทอีนในอาหารเสริม

ในลำดับต่อไป จะทำการศึกษาขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารเสริมซีสเทอีน แล้วจึงนำชุดเครื่องมือไปประยุกต์ใช้วิเคราะห์หาปริมาณซีสเทอีนในผลิตภัณฑ์เหล่านั้น และทดสอบความถูกต้องของชุดเครื่องมือที่พัฒนาขึ้น โดยใช้วิธีทางสถิติ คือ Paired t-test ทดสอบว่าผลวิเคราะห์มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญหรือไม่ ต่อมาจะนำอุปกรณ์บรรจุลงกล่องอะคริลิก (ดังรูปที่ 4) เพื่อพัฒนาให้เป็นชุดเครื่องมือที่เคลื่อนย้ายได้สะดวก ง่ายต่อการเก็บรักษา ท้ายสุดจะได้ดำเนินการรวบรวมผลและเผยแพร่รายงานวิจัยต่อไป



รูปที่ 1.3 รูปถ่ายชุดเครื่องมือต้นแบบสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณซีสเทอีนที่คาดว่าจะพัฒนา

#### 1.4 วิธีดำเนินการวิจัย

1.4.1 สืบค้นงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์อนุภาคทองคำนาโน และที่เกี่ยวกับวิธีวิเคราะห์หาปริมาณซีสเทอีนด้วยวิธีต่างๆ

1.4.2 สังเคราะห์อนุภาคทองคำนาโน โดยใช้ไตรโซเดียมไซเตรตเป็นตัวรีดิวซ์ รวมถึงจะได้ศึกษาสถานะในการสังเคราะห์ที่ส่งผลต่อขนาดอนุภาคของทองคำนาโน ได้แก่ ความเข้มข้นของสารตั้งต้น (เตตระคลอโรอูริกแอซิด) ความเข้มข้นของไตรโซเดียมไซเตรต pH ของเตตระคลอโรอูริกแอซิด อุณหภูมิ และเวลาในการป้อนกวน เป็นต้น

1.4.3 ศึกษาขนาดของอนุภาคทองคำที่สังเคราะห์ขึ้น ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM)

1.4.4 ศึกษาความเสถียรของอนุภาคทองคำนาโนที่สังเคราะห์ขึ้น ด้วยเครื่องวัดความต่างศักย์บนผิวอนุภาค (Zeta Potential)

1.4.5 ศึกษาความบริสุทธิ์ของอนุภาคทองคำนาโนที่สังเคราะห์ขึ้น ด้วยเครื่องวิเคราะห์ธาตุด้วยรังสีเอ็กซ์ (EDS)

1.4.6 ศึกษาสมบัติ Surface Plasmon resonance ของอนุภาคทองคำนาโน ด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ เพื่อเลือกความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการติดตามการเกิดปฏิกิริยา

1.4.7 ศึกษาหลักการตรวจวัดหาปริมาณซีสเทอีนด้วยอนุภาคทองคำนาโน และติดตามค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์

1.4.8 ศึกษาตัวแปรที่ส่งผลต่อการตรวจวัดปริมาณซีสเทอีนด้วยอนุภาคทองคำนาโน ได้แก่ ความเข้มข้นของสารละลาย และ pH ของสารละลายอนุภาคทองคำนาโน ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรด์ เวลาในการทำปฏิกิริยา เป็นต้น

1.4.9 ศึกษาอิทธิพลของตัวรบกวน (Interference study) โดยตัวรบกวนที่จะศึกษา ได้แก่ สารประกอบเอมีน เช่น เมลามีน กาบา เป็นต้น

1.4.10 พัฒนาชุดเครื่องมือต้นแบบอัตโนมัติตามหลักการ SIA และพัฒนาโปรแกรมที่ใช้ในการควบคุม ซึ่งอาศัยโปรแกรม Visual basic ในการพัฒนา รวมถึงหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดของเครื่องมือในการวิเคราะห์หาปริมาณซีสเทอีนด้วยอนุภาคทองนาโน เช่น ปริมาตรสารที่ดูดเข้าสู่ระบบ อัตราการไหล ความยาว mixing coil เป็นต้น

1.4.11 นำอุปกรณ์ต่างๆของชุดเครื่องมือต้นแบบ บรรจุลงในกล่องอะคลีริก เพื่อจัดทำเป็นผลิตภัณฑ์ที่พกพาและเคลื่อนย้ายได้สะดวก

1.4.12 ประเมินคุณลักษณะทางเคมีวิเคราะห์ของชุดทดสอบ เช่น ช่วงความเป็นเส้นตรง ความเที่ยง ความแม่นยำ ค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) และ ขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (LOQ) เป็นต้น

1.4.13 ทดสอบความถูกต้อง (Method validation) ของชุดเครื่องมืออัตโนมัติ โดยเปรียบเทียบผลวิเคราะห์ด้วยวิธีทางสถิติ คือ Paired t-test

1.4.14 ประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณซีสเทอีนในตัวอย่างอาหารเสริมแบบเม็ด

1.4.15 เผยแพร่ผลงานวิจัยในงานนิทรรศการวันวิทยาศาสตร์ งานประชุมและวารสารวิชาการระดับนานาชาติ

## 1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ได้ชุดเครื่องมือต้นแบบอัตโนมัติสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณซีสเทอีนในตัวอย่างอาหารเสริม

1.5.2 ผลงานตีพิมพ์ ในวารสารวิชาการระดับชาติและนานาชาติ

## บทที่ 2

### แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 ซีสเทอีน [5 -8]

##### 2.1.1 ข้อมูลทั่วไป

ซีสเทอีนหรือแอล-ซีสเทอีน (Cysteine / L-Cysteine, Cys) เป็นกรดอะมิโนชนิดไม่จำเป็นตัวหนึ่งในร่างกายที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบซึ่งร่างกายสามารถสังเคราะห์เองได้ เป็นสารตั้งต้นในการสร้างกลูตาไรโอนโดโดยการเกิดปฏิกิริยากับไกลซีน (Glycine, Gly) และกรดกลูตามิก (Glutamic Acid, Glu) ซีสเทอีนเป็นสารอาหารสำคัญสำหรับการชะลอวัย และเมื่อถูกเผาผลาญแล้วจะเกิดเป็นกรดซัลฟูริกซึ่งจะไปทำปฏิกิริยากับสารอื่นๆ ช่วยในการขับสารพิษออกจากร่างกาย และยังป้องกันโลหะหนักตกค้างในร่างกายและช่วยกำจัดอนุมูลอิสระ

##### 2.1.2 คุณลักษณะ

ซีสเทอีนมีลักษณะเป็นผงสีขาว สูตรโมเลกุลคือ  $\text{HO}_2\text{CCH}(\text{NH}_2)\text{CH}_2\text{SH}$  มวลโมเลกุลเท่ากับ 121.16 กรัมต่อโมล จุดหลอมเหลวเท่ากับ  $240\text{ }^\circ\text{C}$  สามารถละลายได้ในแอลกอฮอล์ กรดอะซิติก แอมโมเนีย และน้ำ ซีสเทอีนมีหมู่ฟังก์ชัน 3 หมู่ คือ หมู่คาร์บอกซิลิก ( $-\text{COOH}$ ) หมู่อะมิโน ( $-\text{NH}_2$ ) และหมู่ไธออล ( $-\text{SH}$ ) จึงมีค่าการแตกตัวของกรด ( $\text{pKa}$ ) 3 ค่า คือ  $\text{pKa}_1$  ของหมู่คาร์บอกซิลิก = 1.71  $\text{pKa}_2$  ของหมู่อะมิโน = 10.78 และ  $\text{pKa}_3$  ของหมู่ไธออล = 8.33 ตามลำดับ และมีค่า  $\text{pI} = 5.02$

##### 2.1.3 แหล่งที่พบ

ซีสเทอีนสามารถพบได้ในอาหารที่มีโปรตีนสูง เช่น เนื้อสัตว์ นม ไข่ ซีส กระเทียม หัวหอม บรอกโคลี พริกแดง เป็นต้น ปริมาณซีสเทอีนที่แนะนำต่อวันเท่ากับ 4.1 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักผู้บริโภค (กิโลกรัม) อาหารแต่ละชนิดจะมีปริมาณซีสเทอีนไม่เท่ากันดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ตารางแสดงปริมาณซีสเทอีนในอาหารชนิดต่างๆ [9]

อาหาร	ปริมาณซีสเทอีน (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม)
ถั่วเหลือง	638
เนื้อวัว	460
เนื้อไก่	423
เนื้อหมูสันใน	388
ข้าวโอ๊ต	408
เมล็ดดอกทานตะวัน	451
เมล็ดถั่ว	127
ธัญพืช	120
ไข่ต้ม	292

#### 2.1.4 ประโยชน์

ประโยชน์ที่สำคัญของซีสเทอีนคือ ช่วยป้องกันผลข้างเคียงจากการรักษาด้วยยาเคมีโอมและการฉายรังสี ช่วยเสริมความแข็งแรงของโครงสร้างโปรตีนเคราติน (Keratin) ที่ใช้ในการสร้างผิว ผม เล็บ ช่วยให้รากผมแข็งแรงไม่หลุดร่วงง่าย ช่วยกำจัดสารพิษโดยการสร้างพันธะกับ ไกลซีนและกรดกลูตามิก เกิดเป็นกลูตาไรโอนที่ช่วยกำจัดพิษออกจากร่างกายโดยเปลี่ยนสารพิษชนิดที่ไม่ละลายน้ำเช่น โลหะหนัก สารระเหย ยาฆ่าแมลง ให้เป็นสารที่ละลายน้ำได้ดีขึ้นและง่ายต่อการกำจัดออกจากร่างกาย ช่วยป้องกันไม่ให้ตับถูกทำลายโดยแอลกอฮอล์และสารพิษจากบุหรี่ ช่วยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทซินเนส (Tysinase) ไม่ให้เปลี่ยนเป็นโดปาควิโนน (Dopaquinone) ซึ่งมีผลทำให้ร่างกายสร้างเม็ดสีน้อยลงจึงทำให้ผิวขาวขึ้น

### 2.2 อนุภาคทองคำระดับนาโน (Gold nanoparticles) [10 - 12]

#### 2.2.1 ข้อมูลทั่วไป

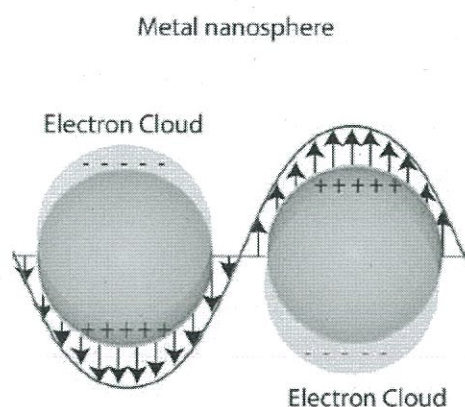
อนุภาคระดับนาโน คืออนุภาคที่มีขนาดอยู่ในช่วง 1-100 นาโนเมตร อนุภาคโลหะระดับนาโนมีสมบัติทางกายภาพและทางเคมีแตกต่างไปจากโลหะขนาดใหญ่ เช่น จุดหลอมเหลวต่ำลง พื้นที่ผิวสัมผัสสูงขึ้น การเร่งปฏิกิริยาเคมี นำไฟฟ้าได้ดี และมีสีที่เปลี่ยนตามขนาดของอนุภาค เป็นต้น ซึ่งสมบัติต่างๆ

เหล่านี้เป็นที่น่าสนใจในการนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆมากมาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งนำมาประยุกต์ใช้ทางการวิเคราะห์ทางเคมีเพื่อวิเคราะห์หาสารที่สนใจ

### 2.2.2 สมบัติทางแสง

สมบัติทางแสงของอนุภาคทองระดับนาโน จะอธิบายได้ด้วยปรากฏการณ์เซอร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์ (surface plasmon resonance, SPR) ซึ่งเป็นคลื่นความหนาแน่นของประจุที่เกิดจากการสั่นของอิเล็กตรอนอิสระ ที่มีลักษณะการสั่นพร้อมเพริ่งกัน เป็นปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นบริเวณรอยผิวต่อของโลหะกับสารไดอิเล็กทริก เช่น ระหว่างทองคำหรือกับอากาศหรือสารละลาย โดยที่ขนาด ยอดคลื่น และความกว้าง ของสเปกตรัมพลาสมอนเรโซแนนซ์ของวัสดุต่างๆ จะขึ้นอยู่กับขนาด รูปร่าง ประเภทของวัสดุ และสภาพแวดล้อมรอบๆวัสดุนั้น อนุภาคนาโนของทองจะมีสีแดงแทนที่จะเป็นสีเหลืองวาวอย่างที่พบได้ทั่วไป โลหะชนิดอื่นที่นอกเหนือไปจากทองก็สามารถแสดงปรากฏการณ์เชิงแสงในลักษณะเดียวกันนี้ได้เช่นกัน เช่น อนุภาคนาโนของเงินจะมีสีเหลืองเข้มแทนที่จะเป็นสีเงินวาว จะมีความถี่เรโซแนนซ์อยู่ในช่วงใกล้รังสียูวีซึ่งอยู่นอกสเปกตรัมของช่วงแสงที่มองเห็น

เซอร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์ หรือสมบัติทางแสงของอนุภาคทองระดับนาโนสามารถเกิดขึ้นเนื่องจากอันตรกิริยาของแสงซึ่งเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า ตัวอย่างเช่น แสงกับอิเล็กตรอนอิสระที่ผิวของอนุภาคนาโนของโลหะ ดังรูปที่ 2.1

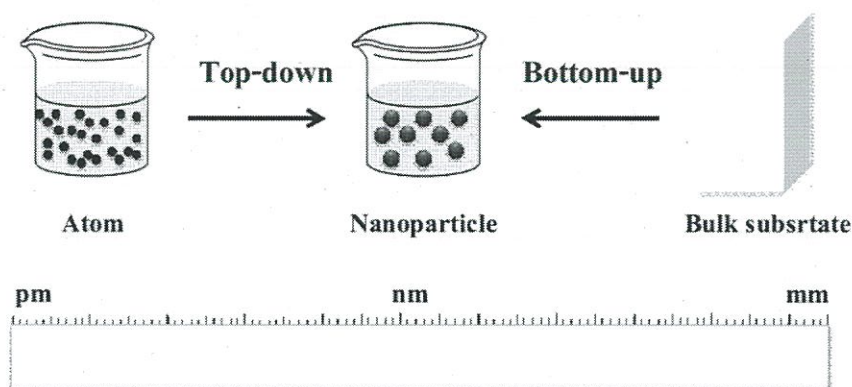


รูปที่ 2.1 กระบวนการสั่นของพลาสมอน (plasmon oscillation) สำหรับอนุภาคทรงกลม [12]

รูปที่ 2.1 แสดงกระบวนการสั่นของพลาสมอน แสดงให้เห็นการกระจัดของกลุ่มประจุอิเล็กตรอน (conduction electron charge cloud) สัมพัทธ์กับนิวเคลียสเมื่อได้รับแสงหรือคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า ดังนั้นกลุ่มอิเล็กตรอนอิสระจะถูกเหวี่ยงทำให้เกิดการสั่นพ้อง โดยความถี่ของการสั่นนี้ขึ้นอยู่กับความหนาแน่นของอิเล็กตรอน (electron density) มวลสัมพัทธ์อิเล็กตรอน (effective electron mass) ขนาด รูปร่างของการกระจายของประจุ (charge distribution) สำหรับการสั่นของอิเล็กตรอนสำหรับอนุภาคขนาดเล็ก เรียกว่า ไดโพล พลาสมอน เรโซแนนซ์ (dipole plasmon resonance)

### 2.2.3 การสังเคราะห์อนุภาคของระดับนาโน

การสังเคราะห์อนุภาคของระดับนาโนมี 2 วิธี คือวิธี Top-down และ Bottom-up (รูปที่ 2.2)

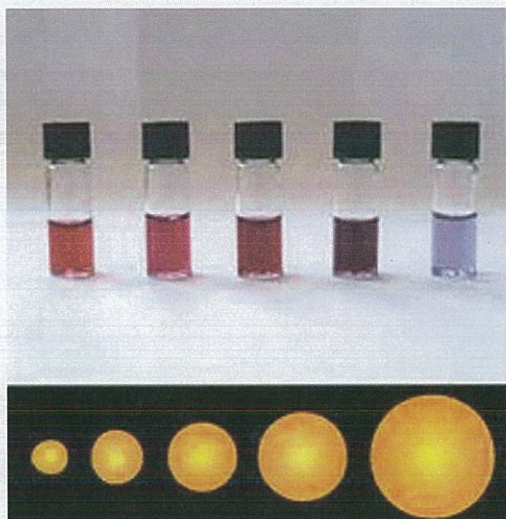


รูปที่ 2.2 การสังเคราะห์อนุภาคของระดับนาโนโดยวิธี Top-down และ Bottom-up [13]

วิธี Top-down เป็นการสังเคราะห์จากขนาดใหญ่ให้เป็นขนาดเล็กโดยการตัดแบ่งวัตถุขนาดใหญ่ให้เล็กลงจนถึงระดับนาโนเมตรด้วยแรงภายนอกโดยใช้เทคนิคต่างๆ เช่น LASER ablation หรือ ion irradiation แต่พบว่าวิธีนี้มีข้อจำกัดก็คือควบคุมขนาดและรูปร่างของอนุภาคได้ยาก

สำหรับวิธี Bottom-up เป็นการสังเคราะห์โดยเริ่มต้นจากการเรียงอะตอมแต่ละอะตอมประกอบขึ้นเป็นอนุภาค จนมีขนาดเป็นระดับนาโนเมตรด้วยวิธีต่างๆทางเคมี เช่น อาศัยหลักการเกิดปฏิกิริยารีดักชันของสารละลาย Tetrachloroauric Acid ( $\text{HAuCl}_4$ ;  $\text{Au}^{3+}$ ) โดยใช้สารลดขนาด เช่น Sodium borohydride หรือ Trisodium citrate เพื่อเปลี่ยนไอออนของทอง ( $\text{Au}^{3+}$ ) ให้เป็นอะตอมของทอง ( $\text{Au}^0$ )

จากนั้นอะตอมทองรวมตัวกันหลายๆอะตอมจนกลายเป็นอนุภาคทองที่มีขนาดระดับนาโนเมตรซึ่งมีลักษณะเป็นคอลลอยด์ ที่มีของแข็งขนาดนาโนเมตรแขวนลอยอยู่ในสารละลาย (รูปที่ 2.3)



รูปที่ 2.3 อนุภาคทองระดับนาโนที่มีขนาดอนุภาคต่างกัน

ที่มา: [http://en.wikipedia.org/wiki/Colloidal\\_gold](http://en.wikipedia.org/wiki/Colloidal_gold)

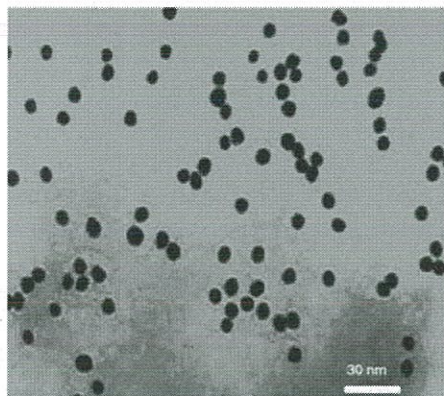
ปัจจุบันการสังเคราะห์แบบ Bottom-up นิยมใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนมากกว่าแบบ Top-down เนื่องจากเป็นวิธีที่สะดวก สามารถควบคุมขนาดและรูปร่างของอนุภาคได้ง่าย

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนในรูปแบบสารละลาย ซึ่งจะมีโครงสร้างเป็นแบบทรงกลม โดยรูปร่างแบบนี้จะมีพื้นที่ผิวน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับรูปร่างแบบอื่นๆ (เมื่อมีปริมาตรเท่ากัน) โดยใช้วิธีการเตรียมแบบเทอร์คีวิช (Turkevich method) [5] โดยอาศัยปฏิกิริยารีดักชันของกรดเตตระคลอโรอริก ( $\text{HAuCl}_4$ ) ด้วยไตรโซเดียมซิเตรตในน้ำ ซึ่งในวิธีการนี้ซิเตรตไอออนจะทำหน้าที่เป็นสารลดขนาดและรักษาเสถียรภาพของทองไว้ อนุภาคที่ได้จะมีขนาดประมาณ 15 นาโนเมตร และมีขนาดใกล้เคียงกันโดยปฏิกิริยาเกิดดังนี้



## 2.2.4 การตรวจสอบคุณลักษณะของอนุภาคทองระดับนาโน

เนื่องจากอนุภาคที่มีขนาดระดับนาโนเมตรไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าจึงต้องอาศัยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Electron microscopes) ที่มีกำลังขยายสูง เช่น กล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน (Transmission electron microscope, TEM) รูปที่ 2.5 แสดงอนุภาคทองระดับนาโนขนาดเฉลี่ย 6 นาโนเมตรที่ถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่านกำลังขยาย 200 kV



รูปที่ 2.4 รูปถ่าย TEM ของอนุภาคทองระดับนาโน

การตรวจสอบคุณลักษณะของอนุภาคทองระดับนาโนนอกจากจะใช้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่านแล้ว ยังสามารถตรวจสอบคุณลักษณะของอนุภาคทองระดับนาโนได้ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ทองคำเมื่ออยู่ในรูปก้อนขนาดใหญ่จะมีสีเหลืองเนื่องจากทองคำดูดกลืนแสงสีน้ำเงินทำให้เห็นทองคำเป็นสีเหลือง แต่ถ้าทองคำทำให้มีขนาดเล็กลงไปเรื่อยๆจนมีขนาดอนุภาคเล็กกว่าความยาวคลื่นแสงที่มากกระทบมากๆทำให้อนุภาคทองระดับนาโนเปลี่ยนความยาวคลื่นที่ดูดกลืนไปเป็นดูดกลืนแสงสีเขียวที่ความยาวคลื่นประมาณ 500 นาโนเมตร ทำให้เห็นอนุภาคทองระดับนาโนเป็นสีแดง ความยาวคลื่นของการดูดกลืนแสงขึ้นกับขนาดของอนุภาคทองระดับนาโน ทั้งนี้เพราะอนุภาคทองระดับนาโนขนาดต่างกันจะให้สีที่ต่างกัน อนุภาคทองระดับนาโนขนาดเล็กจะดูดกลืนความยาวคลื่นแสงในช่วงความยาวคลื่นสั้นทำให้เห็นอนุภาคทองระดับนาโนเป็นสีแดงเข้ม แต่เมื่ออนุภาคทองระดับนาโนมีขนาดใหญ่ขึ้น อนุภาคทองระดับนาโนจะดูดกลืนความยาวคลื่นแสงในช่วงความยาวคลื่นยาวขึ้น สีที่เห็นจึงเปลี่ยนเป็นสีม่วงและน้ำเงินตามขนาดของอนุภาคทองระดับนาโนที่เพิ่มขึ้นตามลำดับ

### 2.2.5 การประยุกต์ใช้อุณหภูมิของระดับนาโนสำหรับการวิเคราะห์ทางเคมี

การที่อุณหภูมิของมีขนาดระดับนาโนเมตรทำให้มีข้อดีคือ มีพื้นที่ผิวต่อปริมาตรสูง เปลี่ยนสีตามขนาดของอนุภาคและช่วยเร่งปฏิกิริยาเคมี จากข้อดีดังกล่าวทำให้ในปัจจุบันได้มีการนำอนุภาคของระดับนาโนมาประยุกต์สำหรับงานด้านเคมีวิเคราะห์เพื่อวิเคราะห์หาสารต่างๆ ทั้งด้านสิ่งแวดล้อม อาหารและการแพทย์ โดยสามารถแจกแจงรายละเอียดได้ดังหัวข้อต่อไปนี้

#### ด้านสิ่งแวดล้อม

มีรายงาน [13] การประยุกต์ใช้อุณหภูมิของระดับนาโนเพื่อวิเคราะห์หาปรอทโดยใช้เครื่องฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Fluorescence spectrophotometer) โดยใช้อุณหภูมิของระดับนาโนขนาด 13 นาโนเมตร ปรับปรุงผิวอนุภาคของระดับนาโนด้วย Rhodamine B (RB), Mercaptopropionic acid (MPA) และ 2,6-pyridinedicarboxylic acid (PDCA) เมื่อให้พลังงานกระตุ้นที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ถ้าในสารละลายไม่มีปรอทจะไม่สามารถเกิดการเรืองแสง (Fluorescence) แต่ถ้ามีปรอทอยู่ในสารละลายก็จะเกิดการเรืองแสงขึ้น เพราะปรอทเป็นตัวช่วยทำให้เกิดการเรืองแสงได้ ดังนั้น เมื่อความเข้มข้นของปรอทเพิ่มขึ้นก็จะทำให้เกิดการเรืองแสงได้มากขึ้น จึงใช้หลักการนี้เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณปรอทในตัวอย่างที่ตกค้างในสิ่งแวดล้อมได้

#### ด้านอาหาร

มีงานวิจัย [14] ที่เกี่ยวกับการพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณเมลามีนขึ้นโดยใช้อุณหภูมิของระดับนาโนโดยอาศัยหลักการปรับผิวของอนุภาคของระดับนาโนด้วยสาร 18-crown-6-thiol การเกิดสารเชิงซ้อนดังกล่าวทำให้อนุภาคของระดับนาโนสามารถรวมตัวกันเป็นกลุ่มใหญ่ขึ้น ส่งผลให้สีของอนุภาคของระดับนาโนเปลี่ยนไปจากเดิม เมื่อความเข้มข้นของเมลามีนสูงขึ้นอนุภาคของระดับนาโนสามารถรวมตัวกันเป็นกลุ่มใหญ่ขึ้น สีจึงเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีม่วงและสีน้ำเงินตามลำดับตามขนาดของอนุภาคของระดับนาโนที่เพิ่มขึ้น จึงใช้ความสัมพันธ์ดังกล่าวหาปริมาณเมลามีนในนมผง

อนุภาคของระดับนาโนยังสามารถประยุกต์ใช้วิเคราะห์หายาปฏิชีวนะกลุ่มเบตาอะโกนิสต์ ( $\beta$ -agonists) เป็นยาที่ช่วยในการขยายหลอดลม แก้อาการหอบหืดในมนุษย์ แต่ในปัจจุบันเกษตรกร ได้นำยาปฏิชีวนะกลุ่มเบตาอะโกนิสต์ไปใช้ฉีดวัวตัวผู้ประสงค์ เช่น ใช้เพื่อลดไขมันและเพิ่มปริมาณเนื้อแดงในสุกร จึงจำเป็นต้องวิเคราะห์หาปริมาณยาที่ตกค้างในเนื้อสัตว์เพื่อควบคุมไม่ให้เกินมาตรฐานอาหารที่กำหนดไว้

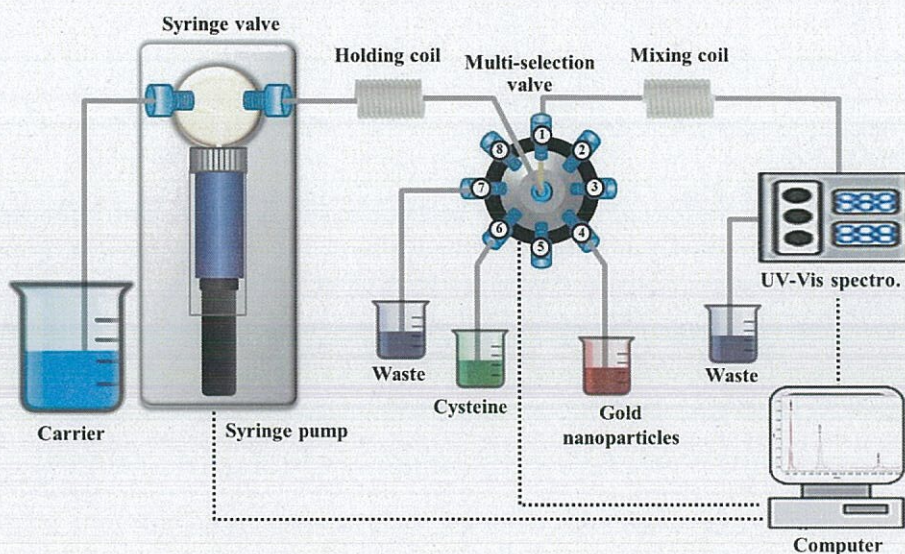
ช่วยป้องกันอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภค จึงได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์หาสารกลุ่มเบตาอะ-โกนิสต์โดยใช้อนุภาคทองระดับนาโน สารกลุ่มเบตาอะโกนิสต์เป็นสารประกอบฟีนิลเอทาโนลามีน (Phenylethanolamines) ที่มีหมู่แทนที่ต่างๆในตำแหน่งวงเบนซีนและที่หมู่อะมิโน สารกลุ่มเบตาอะโกนิสต์สามารถเปลี่ยน  $\text{HAuCl}_4$  เป็น  $\text{Au}^0$  ทำให้ได้อนุภาคทองระดับนาโน วัดความยาวคลื่นของอนุภาคทองระดับนาโนที่ได้ที่ 528 นาโนเมตร ถ้าความเข้มข้นของสารกลุ่มเบตาอะโกนิสต์มากก็จะทำให้ได้อนุภาคทองระดับนาโนเกิดขึ้นมากด้วย วิธีนี้มีความไวในการวิเคราะห์สูง ใช้เวลาวิเคราะห์เพียง 10 นาทีต่อตัวอย่าง และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจหาสารกลุ่มเบตาอะโกนิสต์ในตัวอย่างจริงได้โดยไม่มีผลรบกวนจากรบกวนจากกลูโคสและยาปฏิชีวนะกลุ่มอื่นๆ

### ด้านการแพทย์

อนุภาคทองระดับนาโนยังมีสมบัติเด่นทางด้านไฟฟ้า จึงได้มีงานวิจัยที่ประยุกต์ใช้อนุภาคทองระดับนาโนสำหรับวิเคราะห์หาสารต่างๆโดยใช้ตัวตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า เช่น การวิเคราะห์หาปริมาณแอลฟาอีโนเลส ( $\alpha$ -Enolase; ENO1) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้เป็นสารบ่งชี้มะเร็งปอด อาศัยหลักการอิมมูโนเซนเซอร์แอสเสย์แบบแซนวิช (Sandwichimmunoassay) ซึ่งวิธีนี้ให้ขีดจำกัดต่ำสุดถึง 2.38 pg/mL และใช้เวลาวิเคราะห์เพียง 2.5 ชั่วโมงต่อตัวอย่าง ในขณะที่วิธีทั่วไปที่ใช้ในโรงพยาบาลใช้เวลาวิเคราะห์ถึง 5 ชั่วโมงต่อตัวอย่าง วิธีวิเคราะห์ที่ดีในทางการแพทย์นอกจากจะต้องมีความถูกต้องสูงแล้วยังต้องคำนึงถึงการใช้งานอีกด้วย ผู้ป่วยควรที่จะสามารถตรวจวัดได้ด้วยตัวเองในเบื้องต้น เพื่อควบคุมและติดตามอาการของโรคได้ทันทันที

### 2.3 หลักการวิเคราะห์แบบฉีดเวินเซียลอินเจกชัน (Sequential Injection Analysis, SIA)

ในปี ค.ศ. 1990 Ruzicka และ Marshall [15] ได้พัฒนาระบบวิเคราะห์ที่ชื่อว่า Sequential injection analysis, SIA) ซึ่งเป็นระบบที่มีการดูดสารที่ต้องการวิเคราะห์และรีเอเจนท์เข้ามาเป็นลำดับตามลำดับการเกิดปฏิกิริยา สารตัวอย่างและสารเคมีจะถูกดูดเข้ามาในปริมาตรที่น้อยมากจึงไม่สิ้นเปลืองและลดการผลิตของเสีย ระบบ SIA แสดงดังรูปที่ 1



รูปที่ 2.5 ระบบซีเควนเชียลอินเจกชัน (SIA)

ส่วนประกอบของระบบซีเควนเชียลอินเจกชัน

- 1) หน่วยของการขับเคลื่อน (Propulsion unit) คือ ส่วนของปั๊ม ปั๊มที่ใช้มักเป็นปั๊มกำลังขับเคลื่อนต่ำ เพื่อเป็นตัวขับเคลื่อนรีเอเจนต์และตัวอย่างเข้าสู่ตัวตรวจวัด เช่น Syringe pump
- 2) ระบบของการฉีด (Multiposition valve) คือ ส่วนที่ดูดสารเคมี และ/หรือ สารตัวอย่างเข้าไปเก็บไว้ที่ holding coil มีลักษณะเป็น multiport valve สามารถมี port ได้มากถึง 10 port
- 3) ระบบการพา (transport system) ระบบของการพาสารละลายจะประกอบด้วย holding coil, ท่อนำสาร และ mixing coil ระบบการพานี้จะทำการพักและนำพาสารที่เกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์แล้วเข้าสู่เครื่องตรวจวัด
- 4) ระบบในการตรวจวัด (detection system)

#### 2.4 การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ได้มีงานวิจัยจำนวนมากที่ได้ทำการพัฒนาและศึกษาวิธีการในการตรวจวัดหาปริมาณซีสเทอีนในตัวอย่างประเภทต่างๆ ซึ่งงานวิจัยเหล่านั้นสามารถสรุปขั้นตอนและวิธีวิเคราะห์ได้ดังต่อไปนี้

R. Saetre และคณะ[16] ได้ตรวจวัดหาปริมาณซีสเทอีนในผลไม้ ในกระบวนการตรวจวัดประกอบด้วย การปรับสภาพความเป็นกรด-เบส การปั่นเหวี่ยง และการกรองตัวอย่างน้ำผลไม้ จากนั้นจะทำการแยกโดยใช้วิธีทางเทคนิคโครมาโทกราฟี ซึ่งจะใช้ Zipax SCX cation-exchange resin ในการแยกซีสเทอีนออกจากองค์ประกอบต่างๆ ในตัวอย่าง และตรวจวัดด้วยเครื่องตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า การวิเคราะห์วิธีนี้ใช้เวลาประมาณหกนาทีต่อหนึ่งตัวอย่าง G. Chwatko และคณะ[17] ได้ใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีในการวิเคราะห์ซีสเทอีน โดยอาศัยการเกิดรีดักชันของพันธะไดซัลไฟด์ด้วย

tris(2-carboxyethyl) phosphine จากนั้นทำให้เกิดอนุพันธ์กับ 2-chloro-1-ethylquino-linium tetrafluoroborate และทำการตรวจวัดในช่วงยูวี วิธีนี้ให้ความแม่นยำและถูกต้องสูง

เทคนิคโครมาโทกราฟีนี้ แม้จะมีความถูกต้อง แม่นยำ แต่วิธีนี้มีการเตรียมตัวอย่างค่อนข้างยุ่งยาก อีกทั้งเครื่องมือมีราคาแพงเมื่อเทียบกับเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ด้วยเหตุนี้จึงได้มีการวิจัยจำนวนมากได้พัฒนาวิธีตรวจวัดทางสี (colorimetric method) ในการตรวจวัดหาปริมาณซิสเทอีน และใช้อุณหภูมิเป็นเซนเซอร์ในการตรวจวัด โดยวิธีเหล่านี้ มีรายละเอียดสรุปได้ดังนี้

F. Bamdad และคณะ [18] ได้ทำการตรวจวัดซิสเทอีนในตัวอย่างเลือดมนุษย์โดยใช้อุณหภูมิเงินนาโนที่มี PVP เป็นสารรักษาเสถียรภาพ และมีแบเรียมไอออนเป็นสารช่วยในการรวมตัวของอนุภาค ในการตรวจวัดหมู่ไฮดรอกซิลของซิสเทอีนจะจับกับอนุภาคเงินนาโน หมู่คาร์บอกซิลและเอมีนจะจับกับแบเรียมไอออนด้วยพันธะโคออร์ดิเนชันโคเวเลนต์ ส่งผลให้เกิดการรวมตัวกันของอนุภาค จากการทดลองพบว่า สารละลายเปลี่ยนจากสีเหลืองไปเป็นสีชมพู และเมื่อสร้างกราฟมาตรฐานที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร พบว่ามีความเป็นเส้นตรงในช่วง 3.2 – 8.2 ไมโครโมลาร์  $r^2 = 0.994$  และมีขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดเท่ากับ 2.8 ไมโครโมลาร์ อย่างไรก็ตามอนุภาคเงินนาโนที่สังเคราะห์ขึ้นนี้มีความไวในการวิเคราะห์ต่ำ และมีช่วงความเป็นเส้นตรงที่แคบ

K. Farhadi และคณะ [19] ได้ทำการตรวจวัดซิสเทอีนในตัวอย่างยา โดยใช้อุณหภูมิโลหะของเงิน/พลาตินั่มระดับนาโนเป็นสารทำปฏิกิริยา ในการตรวจวัดซิสเทอีน ได้ทำการปรับพีเอชของสารละลายให้เท่ากับ 7 และเติมโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 6.6 มิลลิโมลาร์ ใช้เวลาในการทำปฏิกิริยา 5 นาที พบว่าเกิดการรวมตัวกันของอนุภาคโลหะ ซึ่งสังเกตได้จากสารละลายเปลี่ยนสีจากสีเหลืองไปเป็นสีเขียวและเกิดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร ซึ่งวิธีนี้ได้ช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 10 – 172 นาโนโมลาร์ โดยมีขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดเท่ากับ 3.3 นาโนโมลาร์และมีค่า  $r^2 = 0.9912$  ซึ่งวิธีนี้มีข้อดีคือมีความไวสูง และสามารถตรวจวัดซิสเทอีนในตัวอย่างยาได้อย่างรวดเร็ว แต่มีข้อเสียคือการเตรียมอนุภาคโลหะระดับนาโนมีความยุ่งยาก

X. Wei และคณะ [20] ได้ทำการตรวจวัดซิสเทอีนในปัสสาวะ โดยใช้อุณหภูมิทองคำนาโนที่ติดหมู่ฟังก์ชัน คาร์บอกซิเมทิลเซลลูโลสเป็นสารทำปฏิกิริยา พบว่าเมื่อใช้โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.02 โมลาร์และใช้เวลาในการทำปฏิกิริยา 10 นาที เกิดการรวมตัวกันของอนุภาคทอง ซึ่งสังเกตได้จากการเปลี่ยนสีของสารละลายและสเปกตรัมการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนไป และได้ช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 10.0 - 100.0 ไมโครโมลาร์ และค่า  $r^2 = 0.997$  วิธีนี้เป็นวิธีที่ง่าย มีความไวสูง และเป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดหาซิสเทอีนในตัวอย่างชีวภาพ

J. Wang และคณะ [21] ได้ทำการตรวจวัดซิสเทอีนโดยใช้อุณหภูมิทองคำนาโนที่สังเคราะห์โดยวิธี seed-mediated และใช้ cetyltrimethyl-ammonium bromide หรือ CTAB เป็นสารรักษาเสถียรภาพของอนุภาคทองคำนาโน ในการตรวจวัดได้ปรับพีเอชของสารละลายเท่ากับ 4.2 และใช้โซเดียมคลอไรด์ความ

เข้มข้น 0.1 โมลาร์ เวลาในการทำปฏิกิริยา 25 นาที ทำการตรวจวัดสัญญาณ plasmon resonance light scattering (PRLS) ของซีสเทอีนที่ความยาวคลื่น 566 นาโนเมตร พบว่าเกิดการรวมตัวกันของอนุภาคทองระดับนาโนขึ้นและค่าความเข้ม PRLS เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของซีสเทอีน ได้ช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.01 – 0.40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเท่ากับ 2.9 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และไม่มีการรบกวนจากกรดอะมิโนชนิดอื่น

Z. Chen และคณะ [22] ได้ทำการตรวจวัดซีสเทอีนโดยใช้อนุภาคทองระดับนาโนที่มี ssDNA เป็นสารรักษาเสถียรภาพ ช่วยป้องกันการเกิดการรวมตัวกันของอนุภาคทองจากเกลือได้และ ssDNA จะหลุดออกเมื่อมีการเติมซีสเทอีน ในการทดลองนี้ได้ใช้โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 150 มิลลิโมลาร์และใช้เวลาในการทำปฏิกิริยา 2 นาที ผลการทดลองพบว่า เมื่อทำการพลอตอัตราส่วนของค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 640 ต่อ 520 นาโนเมตร (A640/A520) ได้เส้นตรงที่มีค่าเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของซีสเทอีนในช่วง 0.1 – 5.0 ไมโครโมลาร์ โดยมีขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด 0.1 โมลาร์ ยังพบอีกว่ากรดอะมิโนชนิดอื่นที่ไม่มีหมู่ไธออล (-SH) ไม่ทำให้สารละลายทองเกิดการเปลี่ยนสีเพราะไม่เกิดปฏิกิริยากับอนุภาคทองระดับนาโน วิธีนี้จึงเป็นวิธีที่มีความจำเพาะเจาะจงสูง

วิธีเหล่านี้แม้จะมีความจำเพาะเจาะจงที่ดีต่อการตรวจวัดซีสเทอีน แต่ก็ยังมีความยุ่งยากและเสียเวลาในการปรับสภาพผิวหรือติดหมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิวอนุภาคทองนาโน จึงได้มีงานวิจัยจำนวนหนึ่งพัฒนาการตรวจวัดซีสเทอีนโดยไม่ปรับสภาพผิวบนอนุภาคทองนาโน งานวิจัยเหล่านั้นมีรายละเอียดสรุปดังต่อไปนี้

Q. Qian และคณะ [23] ได้ทำการตรวจวัดซีสเทอีนในสมองหนูด้วยวิธี colorimetric method โดยใช้อนุภาคทองที่มีขนาดอนุภาคประมาณ 13 นาโนเมตรและมีค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร พบว่าเมื่อเติมซีสเทอีนหรือกรดแอสปาดิกปริมาตร 20 ไมโครลิตร อย่างใดอย่างหนึ่งเพียงอย่างเดียวลงในสารละลายทองนาโนที่ไม่มีการดัดแปลงพื้นผิวอนุภาคปริมาตร 200 ไมโครลิตร ไม่ก่อให้เกิดการรวมตัวกันของอนุภาค ในขณะที่การเติมซีสเทอีนลงในสารละลายทองที่มีกรดแอสปาดิก 1.8 มิลลิโมลาร์ กระจ่ายอยู่และตั้งทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยา 10 นาที จะเกิดการรวมตัวกันอนุภาคทองนาโนซึ่งสังเกตได้จากสีของสารละลายเปลี่ยนไปเป็นสีน้ำเงิน จากการตรวจวัดได้ช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.17 – 1.67 ไมโครโมลาร์ โดยมีขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดที่ 100 นาโนโมลาร์

S. Jongjinakool และคณะ [24] ได้ทำการตรวจวัดซีสเทอีน โดยใช้อนุภาคทองระดับนาโนที่ไม่ได้ทำการปรับปรุงใดๆ พบว่าอนุภาคทองขนาด 10.8 นาโนเมตรและที่พีเอช 4 เหมาะสำหรับการตรวจวัดซีสเทอีน เมื่อเติมซีสเทอีนลงในสารละลายอนุภาคทองนาโนและตั้งทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 3 นาที ผลปรากฏว่าสารละลายเปลี่ยนสีจากสีแดงไปเป็นสีน้ำเงินเนื่องจากซีสเทอีนเหนี่ยวนำให้อนุภาคทองระดับนาโนเกิดการรวมตัวกัน ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมนี้สามารถตรวจวัด ซีสเทอีนได้ช่วง

ความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.1 - 0.6 ppm โดยมีขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด 0.01 ppm และมีค่า  $r^2 = 0.998$

L. Li และ B. Li [25] ได้ทำการตรวจวัดซีสเทอีนโดยอาศัยการรวมตัวกันของอนุภาคทองนาโนที่เกิดอันตรกิริยาระหว่างซีสเทอีนกับ  $\text{Cu}^{2+}$  ในอัตราส่วน 2:1 การตรวจวัดทำโดยการเติมสารละลายซีสเทอีนอื่น 50 ไมโครลิตรลงในสารละลายทอง 350 ไมโครลิตร แล้วทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 6 นาที จากนั้นเติมสารละลาย  $\text{Cu}^{2+}$  50 ไมโครลิตร และทำการเจือจางด้วยน้ำกลั่นจนมีปริมาตรรวม 500 ไมโครลิตรและทำปฏิกิริยาต่อเป็นเวลา 9 นาที ผลปรากฏว่าเกิดการรวมตัวกันของอนุภาคทองนาโนซึ่งสังเกตได้จากการเปลี่ยนสีของสารละลายจากสีแดงเป็นสีน้ำเงิน ความเข้มข้นของซีสเทอีนสามารถตรวจวัดได้ด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer โดยมีขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดเท่ากับ 10 นาโนโมลาร์

M.R. Hormozi-Nezhad และคณะ [26] ได้ทำการพัฒนาวิธีการตรวจวัดซีสเทอีนโดยอาศัยหลักการรวมตัวกันของอนุภาคทองนาโนที่มีซีเตรทเป็นสารรักษาเสถียรภาพของอนุภาค หมู่ไรออลของกรดอะมิโนสามารถแทนที่ซีเตรทบนพื้นผิวของทองได้ ส่งผลให้เกิดการรวมตัวกันของอนุภาคทองผ่านแรงไฟฟ้าสถิตหรือพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุล จากการทดลอง พบว่าสีของสารละลายเปลี่ยนจากสีแดงไปเป็นสีน้ำเงินเมื่อมีการเติมซีสเทอีน เมื่อทำการพลอตอัตราส่วนของค่าการดูดกลืนแสงที่ 640/521 นาโนเมตร พบว่าช่วงความเป็นเส้นตรงของซีสเทอีนอยู่ในช่วง 1 - 100 ไมโครโมลาร์  $r^2 = 0.989$  โดยมีขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดอยู่ที่ 2.1 ไมโครโมลาร์

จากการทบทวนวรรณกรรม สามารถสรุปได้ว่า ยังไม่มีงานวิจัยใดที่ประยุกต์ใช้อนุภาคทองนาโนร่วมกับระบบ SIA เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณซีสเทอีนในผลิตภัณฑ์อาหารเสริม ดังที่เสนอแนวคิดในโครงการวิจัยนี้

### บทที่ 3

#### วิธีดำเนินการวิจัย

#### 3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

##### 3.1.1 สารเคมี

ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	ยี่ห้อและประเทศผู้ผลิต
กรดเตตระคลอโรอริก (Tetrachloroauric (III) acid)	$\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	Sigma-Aldrich, USA
โซเดียมซิเตรต ไดไฮเดรต (Sodium citrate tribasic dihydrate or Trisodium citratedihydrate)	$\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Sigma-Aldrich, USA
แอล-ซีสเทอีน (L-Cysteine)	$\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2\text{S}$	Himedia, India
โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride)	$\text{NaCl}$	Sigma-Aldrich, USA
สารละลายกรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid)	$\text{HCl}$	Carlo Erba Reagents, Spain
สารละลายโซเดียมอะซิเตท (Sodium acetate)	$\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	Carlo Erba Reagents, Spain
สารละลายกรดแอซิก (Acetic acid)	$\text{CH}_3\text{COOH}$	Carlo Erba Reagents, Spain

##### 3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องตรวจวัด

1. ขวดวัดปริมาตร
2. บีกเกอร์
3. ปิเปต
4. หลอดหยด

5. หลอดทดลอง
6. แท่งคนสาร
7. ช้อนตักสาร
8. นาฬิกาจับเวลา
9. กระจกบอควง
10. เครื่องเขย่าสาร Vortex- Genie Z, USA
11. เครื่องวัด pH-Metrohm® 827 pH Lab meter, USA
12. เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ – Jasco V630 ,USA

### 3.2 การเตรียมสารละลาย

สารละลายทุกชนิดเป็นชนิดเกรดวิเคราะห์ (Analytical reagent grade) และเตรียมโดยใช้น้ำกลั่นปราศจากไอออนที่ได้จากเครื่อง ZENEER UP 900 (ยี่ห้อ human corporation)

#### 3.2.1 การเตรียมสารละลายกรดเตตระคลอโรอริกเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์

ละลายเตตระคลอโรอริก 0.0394 กรัม ด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนจำนวนเล็กน้อย ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน

#### 3.2.2 การเตรียมสารละลายไตรโซเดียมซีเทรตเข้มข้น 38.8 มิลลิโมลาร์

ละลายไตรโซเดียมซีเทรต 0.5705 กรัม ด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนจำนวนเล็กน้อย ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 50 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน

#### 3.2.3 การเตรียมสารละลายอนุภาคทองระดับนาโน

เทสารละลายกรดเตตระคลอโรอริกเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ ต้มจนเดือดพร้อมปั่นกวนด้วยความเร็วสูง เมื่อสารละลายเดือด (95 องศาเซลเซียส) เติมสารละลายไตรโซเดียมซีเทรตเข้มข้น 38.8 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 7.0 มิลลิลิตร ลงไปอย่างรวดเร็ว ให้ความร้อนต่อเป็นเวลา 15 นาที สีของสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีแดงไวน์ ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 4 องศาเซลเซียส จนกระทั่งใช้งาน

### 3.2.4 การเตรียมสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.0 โมลาร์

ละลายโซเดียมคลอไรด์ 2.9250 กรัม ด้วยน้ำปราศจากไอออนจำนวนเล็กน้อย ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 50 มิลลิลิตร ด้วยน้ำปราศจากไอออน

### 3.2.5 การเตรียมสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 โมลาร์

ปิเปตสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.0 โมลาร์ มา 2.5, 5.0, 7.5, 10.0 และ 12.5 ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร อย่างละขวด และปรับปริมาตรให้ครบ 25 มิลลิลิตร ด้วยน้ำปราศจากไอออน จะได้ความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 โมลาร์ ตามลำดับ

### 3.2.6 การเตรียมสารละลายมาตรฐานซีสเทอีนเข้มข้น 1.0 มิลลิโมลาร์

ละลายซีสเทอีน 0.0121 กรัม ด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนจำนวนเล็กน้อย ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำปราศจากไอออน

### 3.2.7 การเตรียมสารละลายมาตรฐานซีสเทอีนเข้มข้น 5, 10, 20, 30 และ 40 ไมโครโมลาร์

ปิเปตสารละลายซีสเทอีนเข้มข้น 1.0 มิลลิโมลาร์ มา 50.0, 100.0, 200.0, 300.0 และ 400.0 ไมโครลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร อย่างละขวด ปรับปริมาตรให้ครบ 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำปราศจากไอออน จะได้สารละลายซีสเทอีนที่มีความเข้มข้น 5, 10, 20, 30 และ 40 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ

### 3.2.8 การเตรียมสารละลายไตรโซเดียมซีเทรตเข้มข้น 10.0 มิลลิโมลาร์

ละลายไตรโซเดียมซีเทรต 0.7353 กรัม ด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนจำนวนเล็กน้อย ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 250 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน

### 3.2.9 การเตรียมสารละลายกรดซิตริกเข้มข้น 10.0 มิลลิโมลาร์

ละลายกรดซิตริก 0.5254 กรัม ด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนจำนวนเล็กน้อย ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 250 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน

### 3.2.10 การเตรียมสารละลายซีเทรตบัฟเฟอร์พีเอช 4.5, 5.0, 5.5 และ 6

ปิเปตสารละลายกรดซิตริกเข้มข้น 10.0 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 25.0 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร วัดค่าพีเอชด้วยเครื่องพีเอชมิเตอร์ จากนั้นปรับพีเอชโดยใช้สารละลายโซเดียมซีเทรตเข้มข้น 10.0 มิลลิโมลาร์ จนได้พีเอชที่ต้องการ

### 3.2.11 การเตรียมสารละลายตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารเสริมซีสเทอีน

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารเสริมซีสเทอีน (ข้างฉลากระบุปริมาณซีสเทอีน 100 และ 500 มิลลิกรัมต่อเม็ด) บันทึกรับน้ำหนักไว้และนำไปบดให้ละเอียด นำไปละลายน้ำและกรองผ่านกระดาษกรองใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร สำหรับผลิตภัณฑ์อาหารเสริมซีสเทอีน 100 มิลลิกรัมต่อเม็ด และใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร สำหรับผลิตภัณฑ์อาหารเสริมซีสเทอีน 500 มิลลิกรัมต่อเม็ด จากนั้นปรับปริมาตรให้ถึงขีดบอกปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน จะได้สารละลายตัวอย่างที่มีความเข้มข้นของซีสเทอีน 100 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือเท่ากับ 0.83 และ 4.13 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ

สำหรับสารละลายตัวอย่างซีสเทอีนเข้มข้น 0.83 มิลลิโมลาร์ ปิเปตสารละลายตัวอย่างมา 152.0 ไมโครลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ถึงขีดบอกปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน จะได้สารละลายตัวอย่างที่มีความเข้มข้นของซีสเทอีนเท่ากับ 5.0 ไมโครโมลาร์

สำหรับสารละลายตัวอย่างซีสเทอีนเข้มข้น 4.13 มิลลิโมลาร์ ปิเปตสารละลายตัวอย่างมา 121.0 ไมโครลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ถึงขีดบอกปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน จะได้สารละลายตัวอย่างที่มีความเข้มข้นของซีสเทอีนเท่ากับ 20.0 ไมโครโมลาร์

### 3.2.12 การเตรียม spiked sample

สำหรับสารละลายตัวอย่างซีสเทอีนเข้มข้น 0.83 มิลลิโมลาร์ ปิเปตสารละลายตัวอย่างมา 152.0 ไมโครลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารละลายซีสเทอีนเข้มข้น 1.0 มิลลิโมลาร์ มา 125.0 ไมโครลิตร ใส่ลงไป ปรับปริมาตรให้ถึงขีดบอกปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน จะได้สารละลายตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 5.0 ไมโครโมลาร์

สำหรับสารละลายตัวอย่างซีสเทอีนเข้มข้น 4.13 มิลลิโมลาร์ ปิเปตสารละลายตัวอย่างมา 121.0 ไมโครลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารละลายซีสเทอีนเข้มข้น 1.0

มิลลิโมลาร์ มา 500.0 ไมโครลิตร ใสลงไป ปรับปริมาตรให้ถึงขีดบอกปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน จะได้สารละลายตัวอย่างที่เต็มสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้น 20.0 ไมโครโมลาร์

### 3.3 วิธีการทดลอง

#### 3.3.1 การตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโน

ปิเปตสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนปริมาตร 2.0 มิลลิลิตร และน้ำปราศจากไอออน 2.0 มิลลิลิตร ใสในหลอดทดลอง เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 400 - 800 นาโนเมตร ด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

#### 3.3.2 การศึกษากลไกการตรวจวัดซีสเทินด้วย AuNPs

ทำการตรวจวัดแบลงค์ โดยปิเปตสารละลายอนุภาคทองระดับนาโน 2.0 มิลลิลิตร และน้ำปราศจากไอออน 8.1 มิลลิลิตร ใสในหลอดทดลอง เขย่าให้เข้ากันเล็กน้อย จากนั้นปิเปตโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.0 โมลาร์ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ตามลงไป และเขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex เป็นเวลา 30 วินาที และนำไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่นาที่ 1 โดยตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 400 - 800 นาโนเมตร

ในการตรวจวัดซีสเทิน ปิเปตสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนปริมาตร 2.0 มิลลิลิตร และน้ำปราศจากไอออน 8.0 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ใสในหลอดทดลอง เขย่าให้เข้ากันเล็กน้อย จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐานซีสเทินเข้มข้น 10.0 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร และปิเปตโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.0 โมลาร์ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ตามลงไปตามลำดับ และเขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex เป็นเวลา 30 วินาที และนำไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่นาที่ 1 โดยตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 400 - 800 นาโนเมตร

สำหรับสารละลายมาตรฐานซีสเทินความเข้มข้นอื่นๆ (20, 40, 60, 100 และ 200 ไมโครโมลาร์) ให้ดำเนินการทดลองเช่นเดียวกัน

### 3.3.3 การออกแบบระบบ Sequence Injection Analysis

ระบบ Sequence Injection Analysis (SIA) สำหรับตรวจวัดซีสเทอีนที่ออกแบบขึ้น ส่วนประกอบต่างๆดังนี้

1. ไชริงค์ปั๊ม (syringe pump) ใช้ไชริงค์ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร
2. วาล์วแบบหลายช่อง (multi-port valve) ใช้วาล์วแบบ 8 ช่อง (8-port valve)
3. holding coil และ mixing coil ยาว 100 เซนติเมตร
4. ระบบในการตรวจวัด (detection system) ใช้ quartz flow-through cell และทำการตรวจวัดด้วย

เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์

### 3.3.4 โปรแกรมควบคุมการทำงานของระบบ SIA

ชุดคำสั่งสำหรับควบคุมการทำงานของระบบ SIA ในการตรวจวัดหาปริมาณซีสเทอีน แสดงดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ชุดคำสั่งควบคุมการทำงานของระบบ SIA ในการตรวจวัดซีสเทอีน

ลำดับ	รายละเอียด	ปริมาตร (ไมโครลิตร)
1	ดูดสารละลายพาเข้าสู่ระบบ (น้ำปราศจากไอออน)	2,400
2	ดูดสารละลาย AuNPs	50
3	ดูดสารละลายซีสเทอีน	25
4	ดูดสารละลายโซเดียมคลอไรด์	25
5	ผลึกสารละลายทั้งหมดเข้าสู่เครื่องตรวจวัด	2,500

### 3.3.5 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดซีสเทอีนด้วย AuNPs โดยใช้ระบบ SIA

#### 3.3.5.1 ศึกษาพีเอชของสารละลาย AuNPs ที่เหมาะสม

สำหรับสารละลาย AuNPs ที่ไม่ปรับพีเอช ปิเปตสารละลายอนุภาคทองระดับนาโน ปริมาตร 25.0 มิลลิลิตร และน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 25.0 มิลลิลิตร ใส่งในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน จากนั้นนำไปใช้ในการตรวจวัดหาปริมาณซีสเทอีนโดยใช้ชุดคำสั่งตามตารางที่ 3.1

สำหรับพีเอช 4.5, 5.0, 5.5 และ 6.0 ทำการปิเปตสารละลายซิทเรตบัฟเฟอร์ที่ปรับพีเอชต่าง แทนปราศจากไอออน และทำการทดลองเช่นเดียวกัน

### 3.3.5.2 ศึกษาความเข้มข้นของสารละลาย AuNPs ที่เหมาะสม

สำหรับสารละลาย AuNPs ความเข้มข้น 0.96 นาโนโมลาร์ ปิเปตสารละลาย AuNPs ที่สังเคราะห์ได้ (เข้มข้น 3.84 นาโนโมลาร์) ปริมาตร 12.5 มิลลิลิตร และน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 37.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน จากนั้นนำไปใช้ในการตรวจวัดหาปริมาณซีเทอีน โดยใช้ชุดคำสั่งตามตารางที่ 3.1

สำหรับสารละลาย AuNPs ความเข้มข้น 1.28 และ 1.92 นาโนโมลาร์ ปิเปตสารละลาย AuNPs ที่สังเคราะห์ได้ (เข้มข้น 3.84 นาโนโมลาร์) มาปริมาตร 16.7 และ 25.0 มิลลิลิตร ตามลำดับ และปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนให้ครบ 50.0 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย AuNPs ความเข้มข้น 1.28 และ 1.92 นาโนโมลาร์ ตามลำดับ และทำการทดลองเช่นเดียวกัน

สำหรับสารละลาย AuNPs ความเข้มข้น 3.84 นาโนโมลาร์ นำสารละลาย AuNPs ที่สังเคราะห์ได้มาใช้เลยโดยไม่ต้องทำการเจือจางก่อน และทำการทดลองเช่นเดียวกัน

### 3.3.5.3 ศึกษาความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่เหมาะสม

ทำการตรวจวัดหาปริมาณซีเทอีน โดยใช้ชุดคำสั่งตามตารางที่ 3.1 โดยใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 โมลาร์ ตามลำดับ

### 3.3.5.4 ศึกษาความยาวของ mixing coil ที่เหมาะสม

ทำการตรวจวัดหาปริมาณซีเทอีนโดยใช้ชุดคำสั่งตามตารางที่ 3.1 โดยใช้ mixing coil ที่ความยาว 50, 100, 150 และ 200 เซนติเมตร ตามลำดับ

## 3.3.6 การศึกษาคุณลักษณะของวิธีวิเคราะห์

### 3.3.6.1 ศึกษาความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัดซีเทอีนด้วย AuNPs โดยใช้ระบบ SIA

ทำการตรวจวัดหาปริมาณซีเทอีนโดยใช้ชุดคำสั่งตามตารางที่ 3.1 ซึ่งใช้สภาวะในการทดลองคือ สารละลาย AuNPs ที่ไม่ปรับพีเอช เข้มข้น 3.84 นาโนโมลาร์ ใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ และ mixing coil ยาว 100 เซนติเมตร ทำการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานซีเทอีนที่ความเข้มข้น 0, 5, 10, 15, 20, 30 และ 40 ไมโครโมลาร์

### 3.3.6.2 ศึกษาความเที่ยงของการวิเคราะห์

ทำการตรวจวัดสารละลายซีสเทอีนที่ความเข้มข้น 5, 20 และ 40 ไมโครโมลาร์ ความเข้มข้นละ 10 ครั้ง โดยใช้ชุดคำสั่งตามตารางที่ 3.1 จากนั้นจะนำค่าดูคลิ่นแสงมาคำนวณหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD)

### 3.3.6.3 ศึกษาความแม่นยำของวิธี

สำหรับสารละลายตัวอย่างที่มีความเข้มข้น 5.0 ไมโครโมลาร์ ทำการตรวจวัดสารละลายตัวอย่างที่มีความเข้มข้นของซีสเทอีนเท่ากับ 5.0 ไมโครโมลาร์ และสารละลายตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐานซีสเทอีนที่ความเข้มข้น 5.0 ไมโครโมลาร์ โดยใช้ชุดคำสั่งตามตารางที่ 3.1 จากนั้นทำการคำนวณหาความเข้มข้น และค่าร้อยละการวิเคราะห์คืนกลับ

สำหรับสารละลายตัวอย่างที่มีความเข้มข้น 20.0 ไมโครโมลาร์ ทำการตรวจวัดสารละลายตัวอย่างที่มีความเข้มข้นของซีสเทอีนเท่ากับ 20.0 ไมโครโมลาร์ และสารละลายตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐานซีสเทอีนที่ความเข้มข้น 20.0 ไมโครโมลาร์ โดยใช้ชุดคำสั่งตามตารางที่ 3.1 จากนั้นทำการคำนวณหาความเข้มข้น และค่าร้อยละการวิเคราะห์คืนกลับ

### 3.3.6.4 ศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of detection, LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ)

ทำการตรวจวัดค่าการดูคลิ่นแสงของสารละลายแบบลงค์จำนวน 10 ครั้ง จากนั้นคำนวณหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าการดูคลิ่นแสง และนำไปคำนวณหาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดและขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ

### 3.3.6.5 ศึกษาความจำเพาะเจาะจงของวิธีที่พัฒนาขึ้น (Selectivity)

ปีเปตสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนปริมาตร 2.0 มิลลิลิตร และน้ำปราศจากไอออน 8.0 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ใส่ในหลอดทดลอง เขย่าให้เข้ากันเล็กน้อย จากนั้นปีเปตสารละลายตัวรบกวนเข้มข้น 400.0 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร และปีเปตโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1.0 โมลาร์ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ตามลงไปตามลำดับ และเขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex เป็นเวลา 30 วินาที และ

นำไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่นาทิตี 1 โดยตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 400 - 800 นาโนเมตร

### 3.3.7 การประยุกต์ใช้ในการหาตรวจวัดหาปริมาณซีสเทอีนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

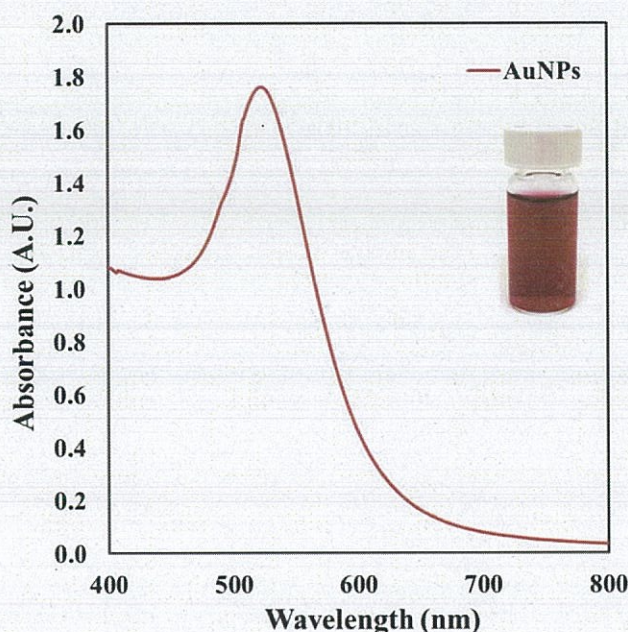
ทำการตรวจวัดตัวอย่างทั้งหมด 10 ตัวอย่าง โดยใช้ชุดคำสั่งตามตารางที่ 3.1 แบ่งเป็นตัวอย่างที่ระบุปริมาณซีสเทอีนข้างฉลากเท่ากับ 100 มิลลิกรัม และ 500 มิลลิกรัม และทำการเปรียบเทียบผลที่วิเคราะห์ได้กับค่าที่ระบุข้างฉลากโดยใช้วิธีทางสถิติ Paired t-test

## บทที่ 4

### ผลการวิจัย

#### 4.1 การสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโน

การสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโน (AuNPs) ได้ใช้วิธีของ Turkevich โดยเป็นการอาศัยปฏิกิริยารีดักชันของกรดเตตระคลอโรอริก ( $\text{HAuCl}_4$ ) ด้วยไตรโซเดียมซิเทรต โดยซิเทรตไอออนจะทำหน้าที่เป็นทั้งตัวรีดิวซ์และสารรักษาเสถียรภาพของ AuNPs หลังจากสังเคราะห์ AuNPs ได้แล้ว นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงในช่วง 400 - 800 นาโนเมตร ซึ่งได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.1



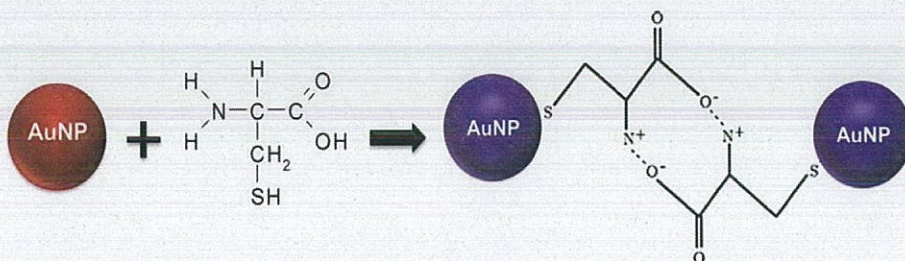
รูปที่ 4.1 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโน (AuNPs) ที่สังเคราะห์ได้ และรูปแทรกภายในแสดงสีของสารละลายอนุภาคทองนาโน

จากรูปที่ 4.1 พบว่าสารละลาย AuNPs ที่สังเคราะห์ได้มีสีแดงไวน์ และเมื่อทำการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสง พบว่าสารละลายสามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่นบริเวณ 524 นาโนเมตร ซึ่งให้เห็นว่างานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จในการสังเคราะห์ จากนั้นนำ AuNPs ที่สังเคราะห์ได้นี้ไปศึกษาการตรวจวัดหาปริมาณซีสเทอีนต่อไป

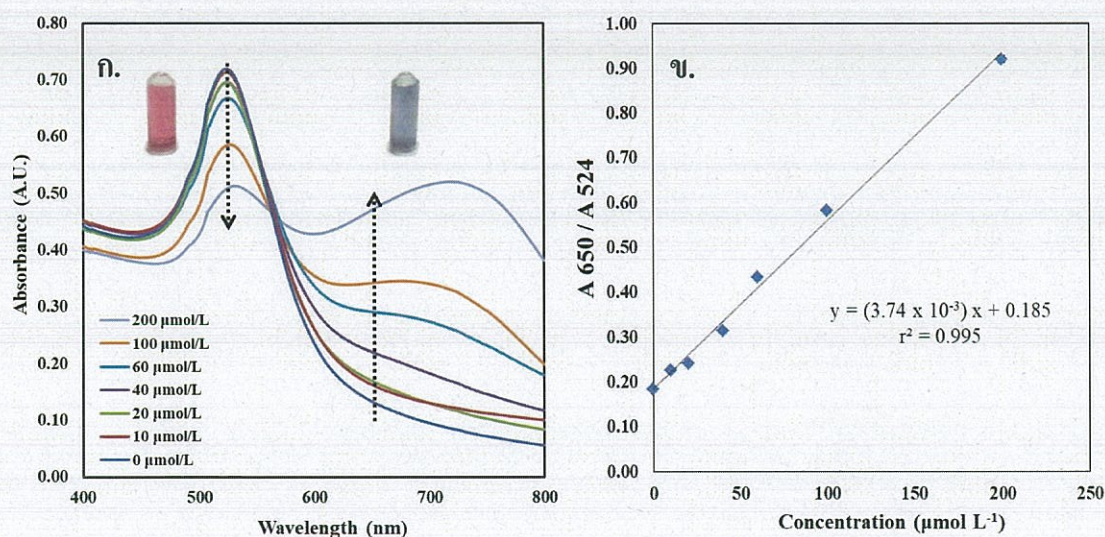
#### 4.2 ศึกษากลไกการตรวจวัดซีสเทอีนด้วย AuNPs

ขั้นแรกได้ศึกษากลไกการตรวจวัดซีสเทอีนโดยใช้ AuNPs ซึ่งอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่าง AuNPs กับซีสเทอีนเป็นไปตามทฤษฎี Hard-Soft Acid-Base (HSAB) โดยที่หมู่ไทโธล (-SH) ของซีสเทอีนจะ

เกิดอันตรกิริยากับพื้นผิวของ AuNPs และ AuNPs จะเกิดการรวมตัวกันโดยอาศัยการดึงดูดกันด้วยแรงดึงดูดระหว่างประจุของซีสเทอีนแต่ละโมเลกุล ซึ่งแสดงดังรูปที่ 4.2 และเมื่อ AuNPs เกิดการรวมตัวกัน สารละลายจะเปลี่ยนสีจากสีแดงไปเป็นสีม่วง เมื่อทำการตรวจวัดการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 400 – 800 นาโนเมตร พบว่าค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 524 นาโนเมตรลดลง และที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร จะเพิ่มขึ้น แสดงผลดังรูปที่ 4.3



รูปที่ 4.2 กลไกการรวมตัวกันของอนุภาคทองคำระดับนาโนกับซีสเทอีน



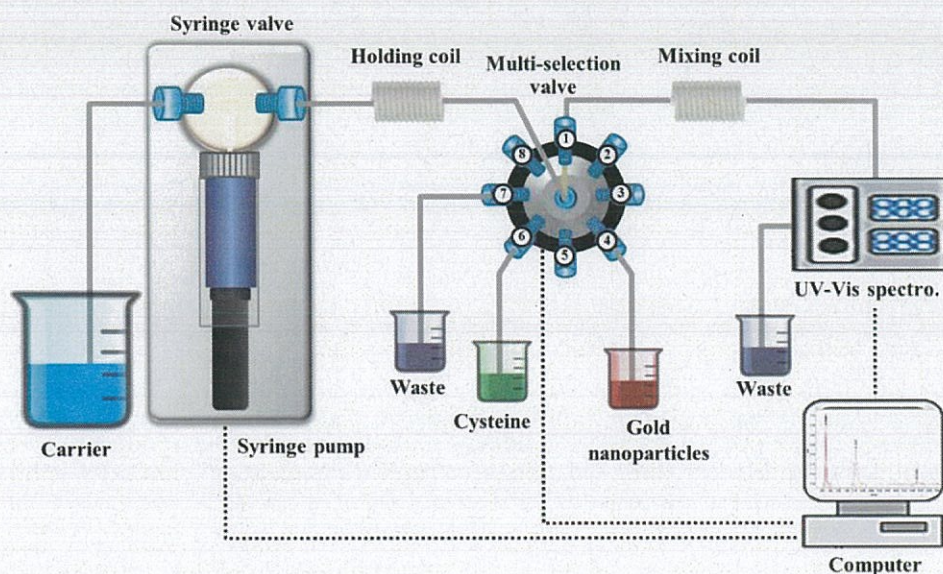
รูปที่ 4.3 ก. Surface plasmon band ของสารละลาย AuNPs เมื่อมีซีสเทอีนที่ความเข้มข้น 0 - 200 ไมโครโมลาร์ และ ข. กราฟมาตรฐานของซีสเทอีนเมื่อพลอตระหว่างอัตราส่วนค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ต่อ 524 นาโนเมตร กับ ความเข้มข้นซีสเทอีน

จากรูปที่ 4.3 ก. พบว่าเมื่อมีการเติมซีสเทอีนลงไปในสารละลาย AuNPs ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 524 นาโนเมตร จะมีค่าน้อยลงและค่าการดูดกลืนแสงที่ 650 นาโนเมตรเพิ่มขึ้นเนื่องจากเกิดการรวมตัวกันระหว่าง AuNPs ซึ่งทำให้คุณสมบัติ surface plasmon resonance เปลี่ยนแปลงไป ทำให้สีของสารละลายเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีม่วง (ภาพแทรกในรูป 3 ก.) และส่งผลต่อค่าความยาวคลื่นที่ดูดกลืนแสงสูงสุดเปลี่ยนไปด้วย และเมื่อเติมซีสเทอีนที่ความเข้มข้นสูงขึ้น พบว่าที่ความยาวคลื่น 524 นาโนเมตร จะมีค่าน้อยลงและค่าการดูดกลืนแสงที่ 650 นาโนเมตรเพิ่มขึ้น ตามความเข้มข้นของซีสเทอีน

เมื่อนำอัตราส่วนค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ต่อ 524 นาโนเมตร มาพลอตกราฟเทียบกับความเข้มข้นซีสเทอีน พบว่าให้ความเป็นเส้นตรงที่ดีในช่วงความเข้มข้น 0 - 200 ไมโครโมลาร์ จึงสรุปได้ว่าสารละลาย AuNPs สามารถใช้ในการตรวจวัดหาปริมาณซีสเทอีนได้ จากนั้นจะทำการศึกษาศึกษาการตรวจวัดหาปริมาณซีสเทอีนด้วย AuNPs โดยใช้ระบบ Sequence Injection Analysis และหาสภาวะที่เหมาะสมต่อไป

#### 4.3 การออกแบบระบบ Sequence Injection Analysis

ในส่วนนี้ได้ทำการออกแบบระบบ Sequence Injection Analysis (SIA) สำหรับตรวจวัดซีสเทอีน ซึ่งเป็นระบบที่ช่วยให้ขั้นตอนในการวิเคราะห์เป็นแบบอัตโนมัติ มีความสามารถในการวิเคราะห์ที่เร็ว และสามารถควบคุมการทำงานของเครื่องมือด้วยโปรแกรมที่จะพัฒนาขึ้นเอง โดยระบบที่ออกแบบมีส่วนประกอบต่างๆดังรูปที่ 4.4



รูปที่ 4.4 ระบบ SIA ที่ใช้พัฒนาเป็นเครื่องมือต้นแบบสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณซีสเทอีนในอาหารเสริม

ส่วนประกอบของระบบ Sequential injection analysis (SIA)

1. ระบบการขับเคลื่อน (propulsion system) จะทำให้เกิดการไหลของกระแสตัวพาไปยังส่วนต่างๆ ของระบบด้วยอัตราเร็วที่คงที่ โดยใช้ไซริงค์ปั๊ม (syringe pump)
2. ระบบการฉีด (injection system) จะมีการใช้วาล์วแบบหลายช่อง (multi-port valve) โดยปกติจะมีหนึ่งช่องต่อโดยตรงกับปั๊ม และจะมีการต่อช่องต่างๆ ไปยัง holding coil กับสารละลายต่างๆ และท้ายสุดต่อช่องไปยังเครื่องตรวจวัด

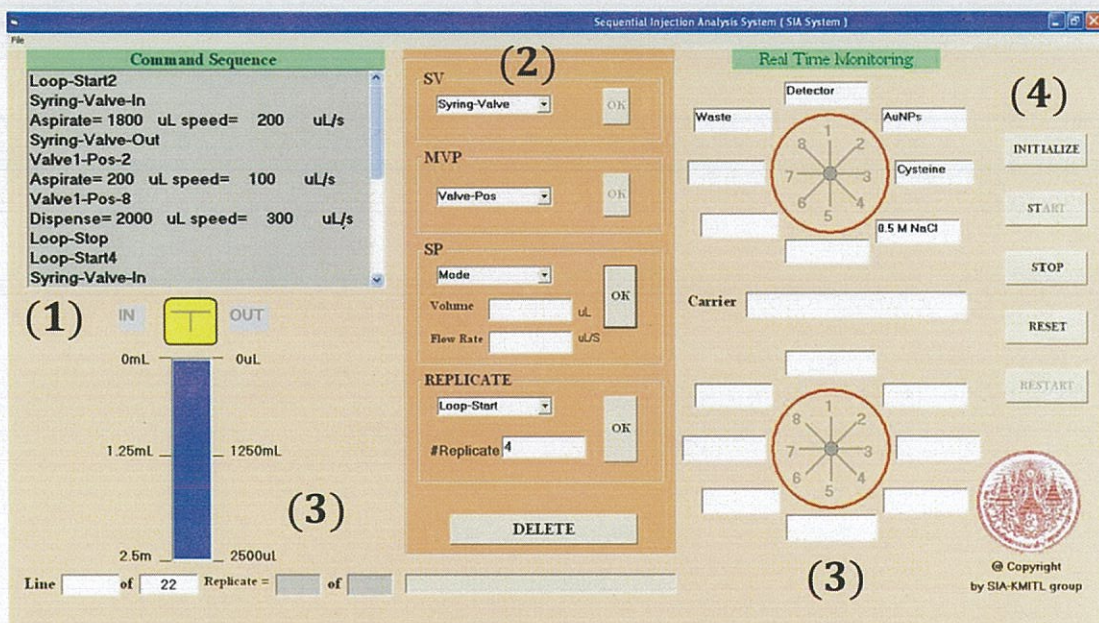
3. ระบบการพา (transport system) ระบบของการพาสารละลายจะประกอบด้วย holding coil, ท่อนำสาร และ mixing coil ระบบการพานี้จะทำการพักและนำพาสารที่เกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์แล้วเข้าสู่เครื่องตรวจวัด

4. ระบบในการตรวจวัด (detection system) โดยในงานวิจัยนี้จะทำการตรวจวัดด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์

#### 4.4 การพัฒนาโปรแกรมควบคุมการทำงานของระบบ SIA

##### 4.4.1 การออกแบบโปรแกรมควบคุมการทำงานของระบบ SIA

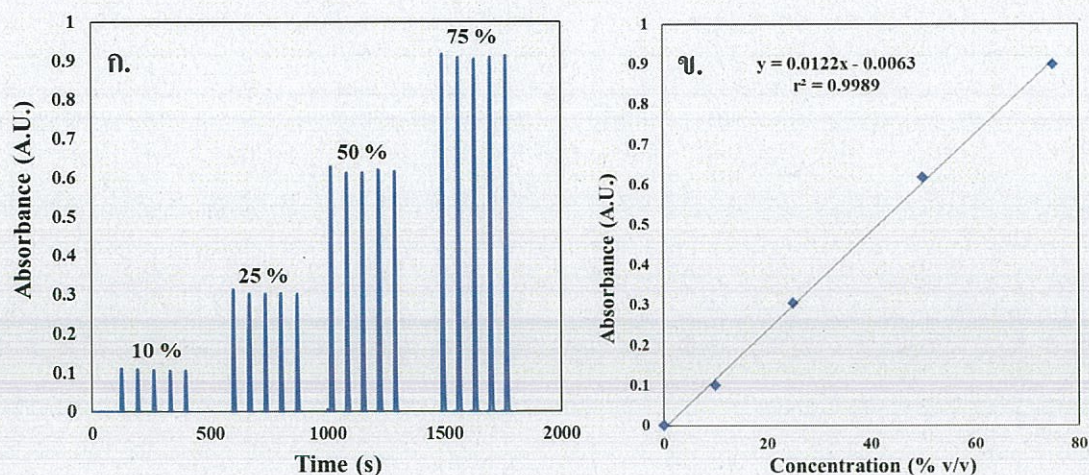
ในการออกแบบยูเซอร์อินเตอร์เฟซของโปรแกรม ได้ใช้โปรแกรม Visual Basic ซึ่งหน้าต่างโปรแกรมมีส่วนประกอบหลัก 4 ส่วน คือ 1) ส่วนในการแสดงชุดคำสั่งควบคุมการทำงานของระบบ SIA 2) ส่วนในการสร้างชุดคำสั่งควบคุมการทำงานของระบบ SIA 3) ส่วนอะนิเมชันแสดงสถานะการทำงานของระบบ SIA และ 4) ชุดคำสั่งดำเนินการ (รูปที่ 4.5)



รูปที่ 4.5 ส่วนประกอบต่างๆ ของโปรแกรมคอมพิวเตอร์ที่พัฒนาขึ้นสำหรับการใช้ควบคุมระบบ SIA

##### 4.4.2 การทดสอบการทำงานของโปรแกรมควบคุมที่พัฒนาและระบบ SIA ออกแบบ

ในการทดสอบโปรแกรมควบคุมและระบบ SIA ได้ทำการทดสอบโดยใช้สารละลายน้ำสีแดงที่ความเข้มข้นร้อยละ 10, 25, 50 และ 75 โดยปริมาตร ผลที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.6

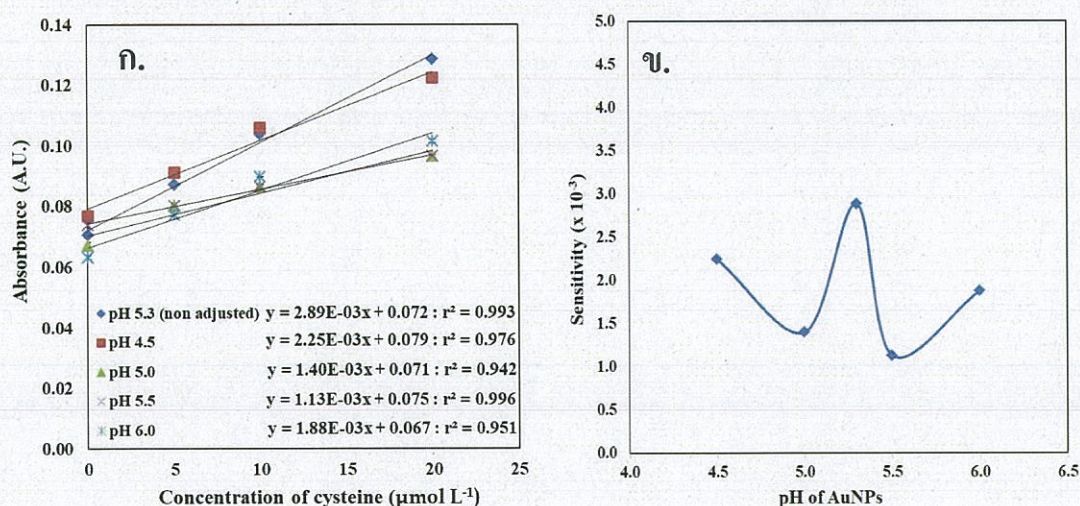


รูปที่ 4.6 ก. แสดง Peak profile ของสารละลายน้ำสีแดง ติดตามที่ 508 nm และ ข. กราฟมาตรฐาน

จากรูปที่ 4.6 แสดง Peak profile ของสารละลายน้ำสีแดง โดยติดตามค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 508 นาโนเมตร และกราฟมาตรฐานเมื่อพลอตเทียบระหว่างค่าดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายน้ำสี จะเห็นว่าค่าดูดกลืนแสงของสารละลายสีแดงเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น และเมื่อนำมาพลอตกราฟเส้นตรง ได้ค่า  $r^2 = 0.9989$  ซึ่งแสดงให้เห็นว่าโปรแกรมและระบบ SIA ที่พัฒนาขึ้นมานี้ใช้งานได้จริง และสามารถนำมาใช้ในการตรวจวัดซีสเทอีนต่อไปได้

#### 4.5 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดซีสเทอีนด้วย AuNPs โดยใช้ระบบ SIA

##### 4.5.1 ศึกษาพีเอชของสารละลาย AuNPs ที่เหมาะสม



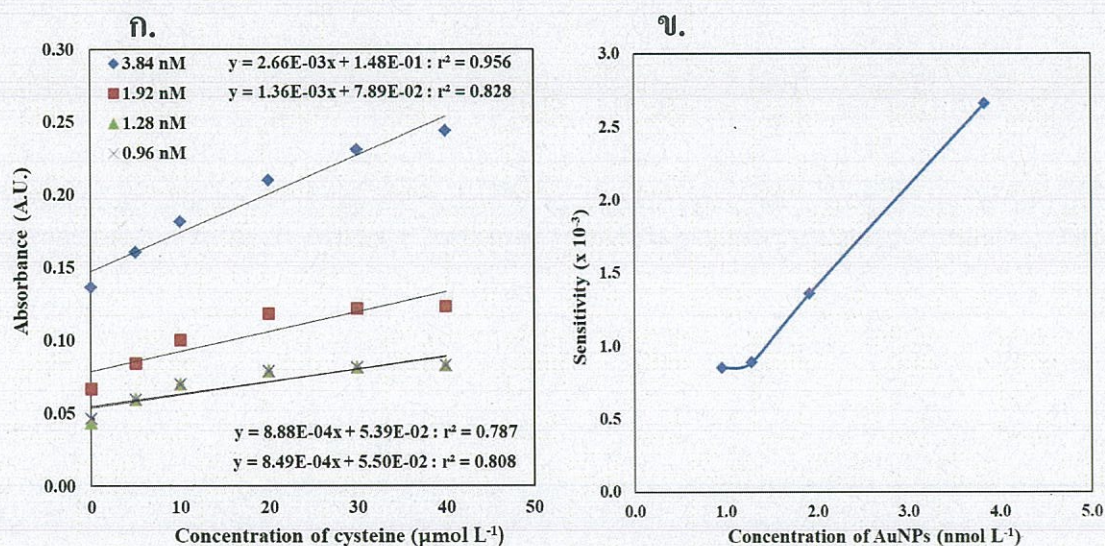
รูปที่ 4.7 ก. กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานซีสเทอีนที่ความเข้มข้น 0, 5, 10 และ 20 ไมโครโมลาร์ เมื่อทำการตรวจวัดที่พีเอชต่างๆ โดยพล็อตระหว่างความเข้มข้นของซีสเทอีนกับค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร และ ข. กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า Sensitivity กับพีเอชของสารละลาย AuNPs

ในการศึกษาพีเอชของสารละลาย AuNPs ที่เหมาะสม ได้ใช้สารละลายซิเตรตบัฟเฟอร์ เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ในการปรับให้ได้พีเอชต่างดังนี้ พีเอช 4.5, 5.0, 5.5 และ 6.0 จากนั้นนำสารละลาย AuNPs ที่ปรับพีเอชแล้วไปใช้ในการตรวจวัดซีสเทอีนด้วยระบบ SIA ซึ่งผลที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.7

ซีสเทอีนเมื่ออยู่ในสารละลายที่มีค่าพีเอชระหว่าง 4 – 7 จะอยู่ในรูป zwitterion สามารถทำให้ AuNPs เกิดการรวมตัวได้ผ่านแรงดึงดูดระหว่างประจุของซีสเทอีน จากรูปที่ 4.7 สารละลาย AuNPs ที่ไม่ปรับพีเอชด้วยบัฟเฟอร์ (pH 5.3) เมื่อนำมาตรวจวัดซีสเทอีนที่ความเข้มข้นต่างๆ ให้แนวโน้มความเป็นเส้นตรงและ sensitivity ที่ดีที่สุด โดยให้ความเป็นเส้นตรงที่ดีอยู่ในช่วง 0 – 20 ไมโครโมลาร์ เนื่องจากการใช้สารละลาย AuNPs ที่ไม่ปรับพีเอช ทำให้ไม่มีไอออนอื่นๆ ที่มาจากบัฟเฟอร์มารบกวนการเหนี่ยวนำระหว่างประจุของซีสเทอีน แต่ถ้าปรับพีเอชของสารละลาย AuNPs ไอออนอื่นๆ ที่มาจากบัฟเฟอร์อาจจะรบกวนการตรวจวัด ทำให้ค่าความเป็นเส้นตรงและ sensitivity ลดลง ดังนั้นจึงเลือกใช้สารละลาย AuNPs ที่ไม่มีการปรับพีเอชในการทดลองต่อไป

#### 4.5.2 ศึกษาความเข้มข้นของสารละลาย AuNPs ที่เหมาะสม

ในส่วนนี้เป็นการศึกษาหาความเข้มข้นของสารละลาย AuNPs ที่เหมาะสมในการเกิดอันตรกิริยากับซีสเทอีน โดยทำการศึกษาที่ความเข้มข้น 3.84, 1.92, 1.28 และ 0.96 นาโนโมลาร์ ผลที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.8

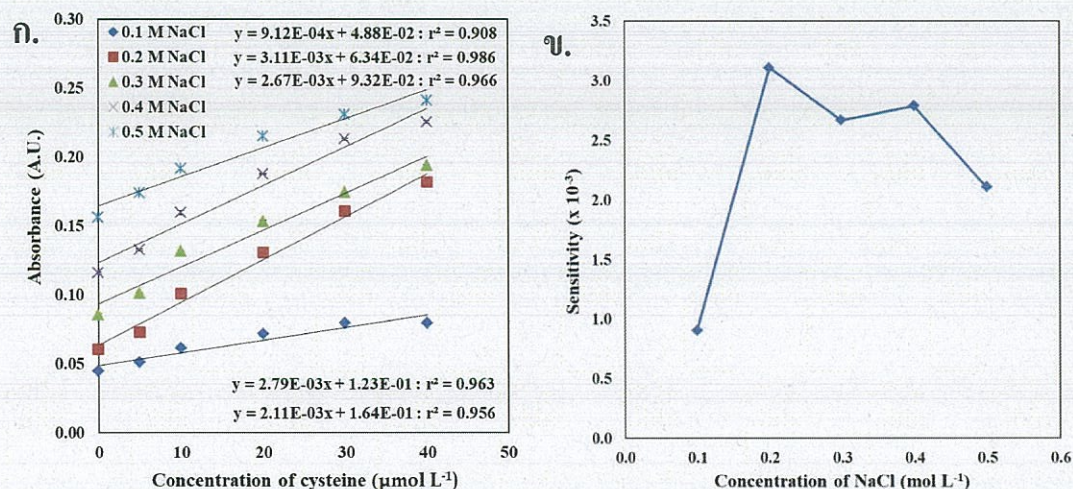


รูปที่ 4.8 ก. กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานซีสเทอีนที่ความเข้มข้น 0, 5, 10, 20, 30 และ 40 ไมโครโมลาร์ เมื่อทำการตรวจวัดโดยใช้สารละลาย AuNPs ที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยพล็อตระหว่างความเข้มข้นของซีสเทอีนกับค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร และ ข. กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า Sensitivity กับความเข้มข้นของสารละลาย AuNPs

จากรูปที่ 4.8 แสดงให้เห็นว่าเมื่อใช้ AuNPs ที่ความเข้มข้นสูงขึ้น กราฟที่ได้มีแนวโน้มความเป็นเส้นตรงที่ไม่ค่อยแตกต่างกัน และเมื่อพิจารณาว่า Sensitivity พบว่าสูงขึ้นตามความเข้มข้นของ AuNPs ที่สูงขึ้น เนื่องจากที่ AuNPs ความเข้มข้นสูง สามารถเกิดอันตรกิริยากับซีสเทอีนได้อย่างเพียงพอ ดังนั้นจะเลือกสารละลาย AuNPs ที่ความเข้มข้น 3.84 nM ในการทดลองต่อไป

#### 4.5.3 ศึกษาความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่เหมาะสม

ในการตรวจวัดซีสเทอีนด้วย AuNPs การเติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์จะช่วยเพิ่มความแรงไอออน (ionic strength) ในสารละลาย ส่งผลให้ AuNPs เกิดการรวมตัวได้ดีขึ้น ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่เหมาะสม โดยทำการศึกษาที่ความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 โมลาร์ ซึ่งผลที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.9



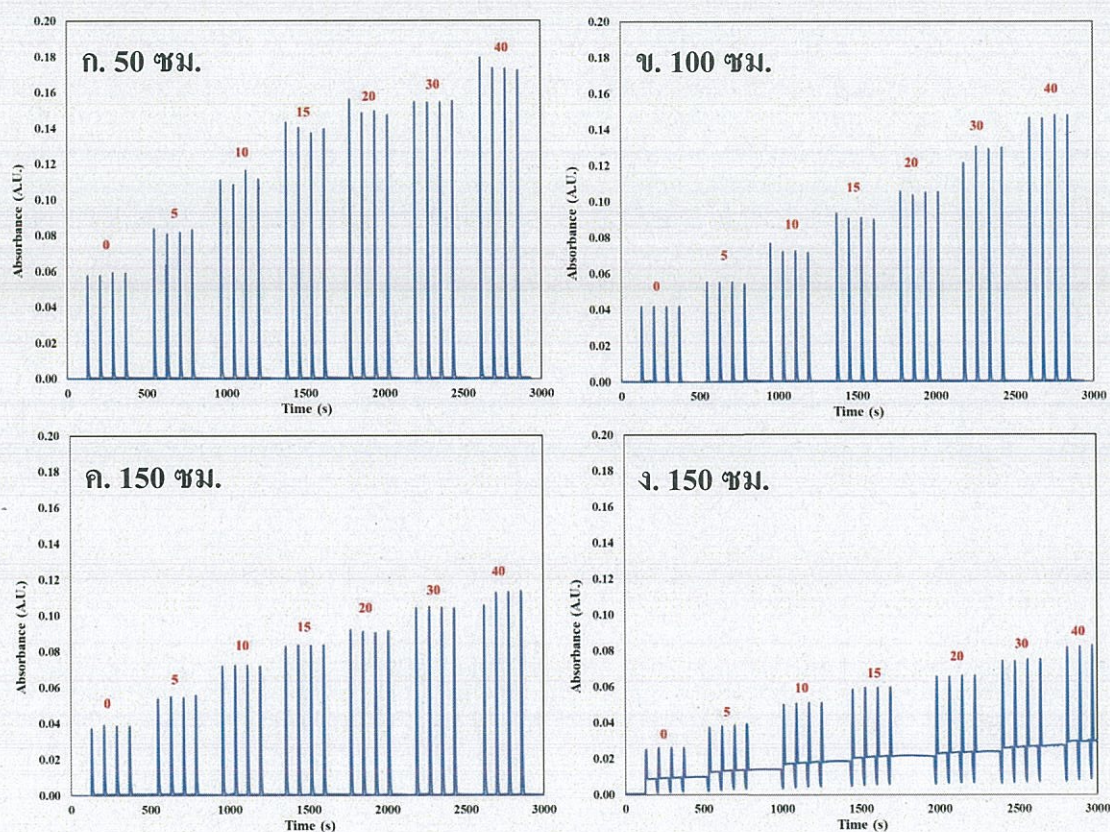
รูปที่ 4.9 ก. กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานซีสเทอีนที่ความเข้มข้น 0, 5, 10, 20, 30 และ 40 ไมโครโมลาร์ เมื่อทำการตรวจวัดโดยใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยพล็อตระหว่างความเข้มข้นของซีสเทอีนกับค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร และ ข. กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า Sensitivity กับความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรด์

จากรูปที่ 4.9 ก. แสดงให้เห็นว่าเมื่อใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นสูงขึ้น สัญญาณแบล็กก็ที่สูงขึ้นตามความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรด์ด้วย ซึ่งเกิดจากการรวมตัวกันเองของ AuNPs (self-aggregation) บางส่วน และเมื่อมีซีสเทอีนในระบบ ซีสเทอีนสามารถเหนี่ยวนำให้ AuNPs เกิดการรวมตัวได้เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของซีสเทอีน โดยทุกความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่ศึกษาให้แนวโน้มความเป็นเส้นตรงที่ค่อนข้างไม่ต่างกัน แต่เมื่อพิจารณา Sensitivity

สารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้น 0.2 M มีค่าสูงที่สุด (รูปที่ 4.9 ข.) ดังนั้นจึงเลือกใช้ความเข้มข้นนี้ในการทดลองต่อไป

#### 4.5.4 ศึกษาความยาวของ mixing coil ที่เหมาะสม

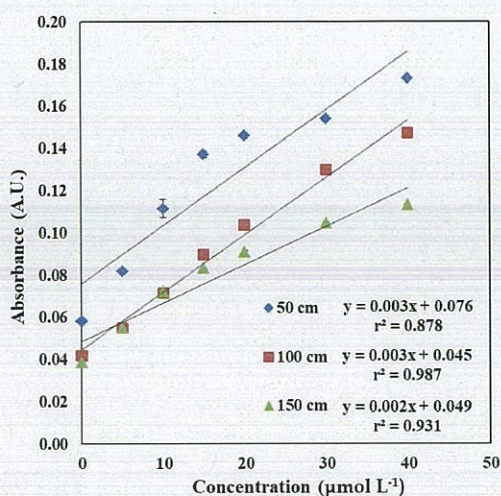
ในส่วนนี้ได้ทำการศึกษาความยาวของ mixing coil ที่เหมาะสม ซึ่งเป็นส่วนประกอบหนึ่งในระบบ SIA ที่สารละลายที่ถูกดูดเข้าสู่ระบบจะเกิดการผสมกันในส่วนนี้ mixing coil ที่ใช้จะมีลักษณะเป็นท่อยาวขดวนหลายรอบ โดยได้ศึกษาที่ความยาว 50, 100, 150 และ 200 เซนติเมตร ผลที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.10



รูปที่ 4.10 Peak profile ของสารละลายมาตรฐานซีสเทอีนที่ความเข้มข้น 0, 5, 10, 20, 30 และ 40 ไมโครโมลาร์ โดยที่ ก. – ง. ใช้ Mixing coil ขนาด 50, 100, 150 และ 200 เซนติเมตร ตามลำดับ

จากรูปที่ 4.10 พบว่า ทุกๆความยาวของ Mixing coil ที่ใช้ในการตรวจวัดด้วยระบบ SIA เมื่อความเข้มข้นของซีสเทอีนเพิ่มขึ้น ค่าดูดกลืนแสงก็เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นด้วย แต่เมื่อใช้ Mixing coil ขนาด 200 เซนติเมตร พบว่ามีสารละลายตกค้าง ไม่สามารถผลัดสารออกจากเครื่องตรวจวัดได้หมด เนื่องจาก Mixing coil ที่ยาวเกินไป ทำให้ปริมาณของสารพา (carrier) ที่อยู่ใน Syringe ไม่เพียงพอที่จะผลัดสารออกไปได้หมด จึงเกิดเป็นสัญญาณที่ค่อยๆเพิ่มสูงขึ้น จากนั้นได้นำค่าดูดกลืนแสงมา

พล็อตกราฟเทียบกับความเข้มข้นของซีสเทอีนเมื่อใช้ Mixing coil ขนาด 50, 100 และ 150 เซนติเมตร ดังแสดงในรูปที่ 4.11



รูปที่ 4.11 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานซีสเทอีนที่ความเข้มข้น 0, 5, 10, 20, 30 และ 40 ไมโครโมลาร์ เมื่อใช้ Mixing coil ขนาด 50, 100 และ 150 เซนติเมตร โดยพล็อตระหว่างความเข้มข้นกับค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 nm

จากรูปที่ 4.11 พบว่าเมื่อใช้ Mixing coil ขนาด 50 เซนติเมตร ให้ความเป็นเส้นตรงที่ต่ำ เนื่องจาก Mixing coil ที่สั้นเกินไป จึงทำให้สารละลายภายในท่อผสมกันได้ไม่ดี ทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ไม่สมบูรณ์ และเมื่อใช้ Mixing coil ขนาด 150 เซนติเมตร พบว่าทั้งค่า Sensitivity และความเป็นเส้นตรงมีค่าที่ค่อนข้างต่ำ เนื่องจาก Mixing coil ที่ยาว ส่งผลให้ท่อนผลิตภัณฑ์ที่เกิดภายในท่อเกิดการแพร่ตามความยาวท่อ (Diffusion) ค่าดูดกลืนแสงจึงลดต่ำลง และเมื่อใช้ Mixing coil ขนาด 100 เซนติเมตร พบว่า ให้ค่าเป็นเส้นตรงที่ดีที่สุด ดังนั้นจึงเลือก Mixing coil ขนาด 100 เซนติเมตร สำหรับการทดลองต่อไป

จากผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดซีสเทอีนด้วย AuNPs โดยใช้ระบบ SIA ทั้งหมดสามารถสรุปได้ดังตารางที่ 4.1

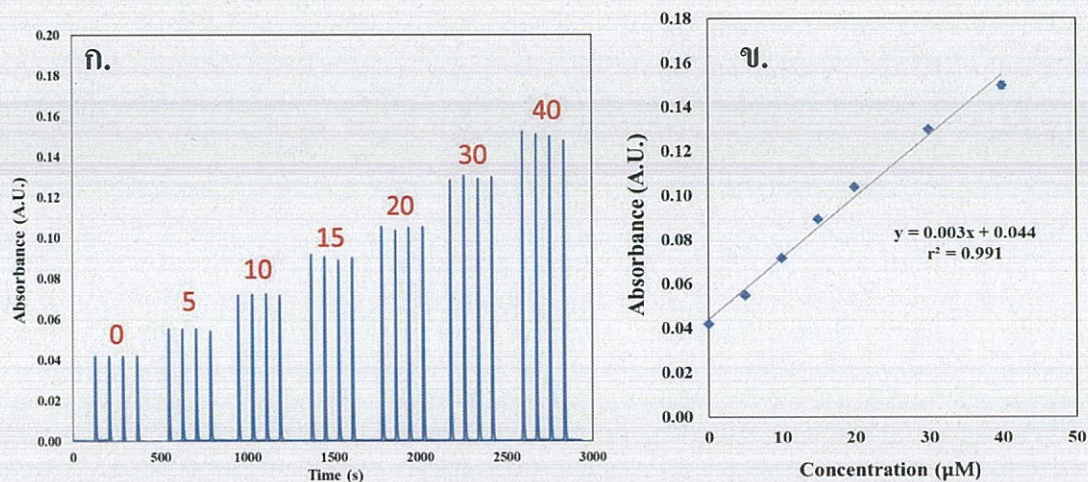
ตารางที่ 4.1 สรุปปัจจัยที่ศึกษาและสภาวะที่เหมาะสมในการทดลอง

ปัจจัยที่ศึกษา	สภาวะที่เหมาะสม
พีเอชของสารละลาย AuNPs	ไม่ปรับพีเอช (pH 5.3)
ความเข้มข้นของสารละลาย AuNPs	3.84 nM
ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรด์	0.2 M
ความยาวของ mixing coil	100 ซม.

## 4.6 การศึกษาคุณลักษณะของวิธีวิเคราะห์

### 4.6.1 ศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัดซีสเทอีนด้วย AuNPs โดยใช้ระบบ SIA

ได้ทำการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัดซีสเทอีนภายใต้สภาวะที่เหมาะสมซึ่งได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.12



รูปที่ 4.12 ก. Peak profile ของสารละลายมาตรฐานซีสเทอีนที่ความเข้มข้น 0, 5, 10, 15, 20, 30 และ 40 ไมโครโมลาร์ ข. กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานซีสเทอีนโดยพล็อตระหว่างความเข้มข้นกับ ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 nm

จากรูปที่ 4.12 พบว่าช่วงความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัดซีสเทอีนอยู่ในช่วง 1 – 40 ไมโครโมลาร์ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ ( $r^2$ ) เท่ากับ 0.991

### 4.6.2 ศึกษาความเที่ยงของการวิเคราะห์

ในการศึกษาหาความเที่ยงของวิธี ได้ทำการตรวจวัดสารละลายซีสเทอีนที่ความเข้มข้น 5, 20 และ 40 ไมโครโมลาร์ ความเข้มข้นละ 10 ครั้ง จากนั้นจะนำมาคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) แสดงดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 แสดงค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของการตรวจวัดซีสเทอีนด้วย AuNPs โดยใช้ระบบ SIA

ความเข้มข้นของ สารละลายมาตรฐานซีสเทอีน (ไมโครโมลาร์)	ค่าดูดกลืนแสงเฉลี่ย ที่ 650 nm (n=10)	SD	%RSD
5	0.0524	0.0002	0.38
20	0.0994	0.0005	0.50
40	0.1507	0.0006	0.40

จากตารางที่ 4.2 ได้ทำการตรวจวัดสารละลายซีสเทอีนที่ความเข้มข้น 5, 20 และ 40 ไมโครโมลาร์ ความเข้มข้นละ 10 ครั้ง พบว่ามีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับร้อยละ 0.38, 0.50 และ 0.40 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าต่ำมาก ซึ่งแสดงให้เห็นว่าวิธีวิเคราะห์นี้เป็นวิธีที่มีความเที่ยงสูง

#### 4.6.3 ศึกษาความแม่นยำของวิธี

ทำการศึกษาโดยการเติมสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 5 และ 20 ไมโครโมลาร์ ลงในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารซีสเทอีน และทำการตรวจวัดหาปริมาณความเข้มข้นของซีสเทอีนในตัวอย่าง ตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐาน และสารละลายมาตรฐาน จากนั้นคำนวณหาค่าร้อยละการวิเคราะห์ที่คืนกลับ (% recovery) โดยทำการวิเคราะห์ทั้งหมด 10 ตัวอย่าง ผลที่ได้แสดงดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 แสดงค่าร้อยละการวิเคราะห์ที่คืนกลับของวิธี

ตัวอย่างที่	ความเข้มข้นของซีสเทอีน (ไมโครโมลาร์)			ค่าร้อยละการวิเคราะห์ที่คืนกลับ (% recovery)
	สารละลายมาตรฐานที่เติม	ตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐาน	ตัวอย่าง	
ตัวอย่างที่ 1	5	11.1	5.9	104.0
ตัวอย่างที่ 2	5	9.6	4.5	102.0
ตัวอย่างที่ 3	5	11	5.8	104.0
ตัวอย่างที่ 4	5	10.7	5.9	96.0
ตัวอย่างที่ 5	5	11.6	6.3	106.0
ตัวอย่างที่ 6	20	40.5	20.7	99.0
ตัวอย่างที่ 7	20	41.1	20.4	103.5
ตัวอย่างที่ 8	20	42.2	21.4	104.3
ตัวอย่างที่ 9	20	40.8	21.5	96.5
ตัวอย่างที่ 10	20	41.7	22.1	98.0

จากตารางที่ 4.3 แสดงผลการตรวจวัดซีสเทอีนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร โดยรายงานผลเป็นค่าร้อยละการวิเคราะห์ที่คืนกลับ ทำการตรวจวัดทั้งหมด 10 ตัวอย่าง แต่ละตัวอย่างได้เติมสารมาตรฐานที่ความเข้มข้น 5 และ 20 ไมโครโมลาร์ พบว่าเมื่อเติมสารมาตรฐานที่ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ ได้ค่าร้อยละการวิเคราะห์ที่คืนกลับ อยู่ในช่วง 96.0 – 106.0 และเมื่อเติมสารมาตรฐานที่ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ ได้ค่าร้อยละการวิเคราะห์ที่คืนกลับ อยู่ในช่วง 96.5 – 104.3 จากผลการทดลองสรุปได้ว่าวิธีวิเคราะห์นี้เป็นวิธีที่มีความแม่นยำสูง สามารถประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดหาซีสเทอีนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารได้

#### 4.6.4 ศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of detection, LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ)

ศึกษาโดยการนำสารละลายแบบลบล้างมาทำการตรวจวัดซ้ำ จำนวน 10 ครั้ง จากนั้นนำผลที่ได้มาคำนวณหาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดและขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ โดยใช้สมการดังนี้

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

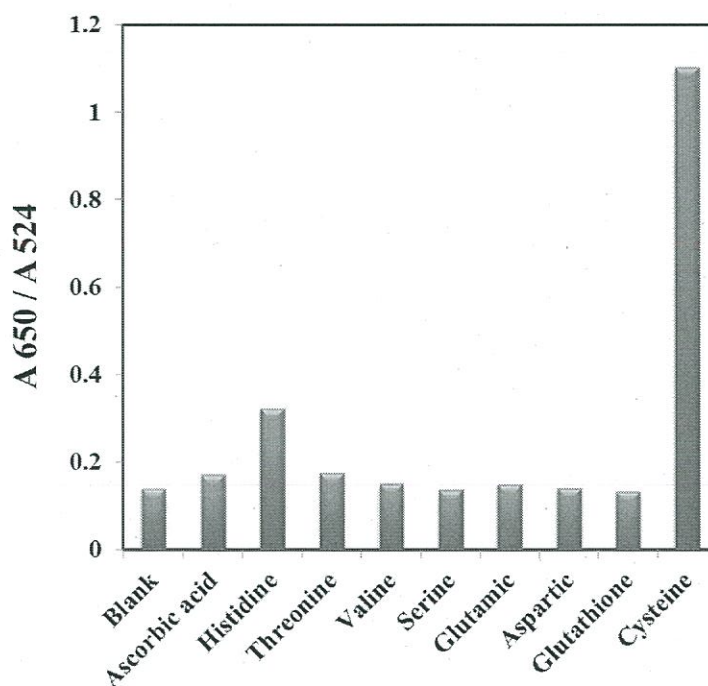
และ

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

ซึ่งได้ค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.11 และ 0.36 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ

#### 4.6.5 ศึกษาความจำเพาะเจาะจงของวิธีที่พัฒนาขึ้น (Selectivity)

ได้ทำการศึกษาสารละลายตัวรบกวนชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้น 400 ไมโครโมลาร์ และสารละลายมาตรฐานซีสเทอีนที่ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลาร์ โดยใช้การตรวจวัดภายใต้สภาวะที่เหมาะสมเหมือนกันทุกประการ ซึ่งผลที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.13



รูปที่ 4.13 กราฟแท่งพล็อตเทียบระหว่างอัตราส่วนค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร กับตัวรบกวนต่างๆ

จากรูปที่ 4.13 แสดงให้เห็นว่าตัวบวกรส่วนใหญ่ไม่บวกรการวิเคราะห์ แม้จะมีความเข้มข้นสูงกว่าซีสเทอีนถึง 100 เท่า ยกเว้น Histidine ที่บวกรการวิเคราะห์เล็กน้อย จึงสรุปได้ว่าวิธีนี้มีความจำเพาะเจาะจงสูง

#### 4.7 การประยุกต์ใช้ในการหาตรวจวัดหาปริมาณซีสเทอีนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

หลังจากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการทดลองทั้งหมด ได้นำวิธีที่พัฒนาขึ้นมาี้มาประยุกต์ใช้เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณซีสเทอีนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร โดยทำการตรวจวัดทั้งหมด 10 ตัวอย่าง และได้เปรียบเทียบผลที่วิเคราะห์ได้กับค่าที่ระบุข้างฉลากโดยใช้วิธีทางสถิติ ซึ่งผลที่ได้แสดงดังตารางที่ 4.4 และ 4.5

ตารางที่ 4.4 เปรียบเทียบผลการตรวจวัดหาปริมาณซีสเทอีนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเทียบกับค่าที่ระบุข้างฉลาก

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นของซีสเทอีน (มิลลิกรัม)	
	วิธีที่พัฒนาขึ้น	ระบุข้างฉลาก
1	109.7 ± 0.1	100.0
2	103.3 ± 0.4	100.0
3	100.6 ± 1.7	100.0
4	98.9 ± 1.5	100.0
5	97.4 ± 1.2	100.0
6	513.1 ± 2.8	500.0
7	511.8 ± 2.9	500.0
8	506.5 ± 0.9	500.0
9	494.9 ± 0.5	500.0
10	493.0 ± 0.8	500.0

ตารางที่ 4.5 แสดงการเปรียบเทียบผลลัพธ์วิเคราะห์โดยใช้การทดสอบ Paired t-test

<i>t</i> -Test: Paired two sample for means	
$t_{stat}$	1.297
$t_{critical}$	2.262

จากผลการทดลองตารางที่ 4.4 แสดงให้เห็นว่าผลที่ได้จากวิธีที่พัฒนามีค่าที่ใกล้เคียงกับค่าที่ระบุข้างฉลาก และได้ทำเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์โดยใช้วิธีทางสถิติ Paired t-test (ตารางที่ 4.5) พบว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นให้ผลการวิเคราะห์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% แสดงว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้มีความถูกต้อง สามารถใช้ในการตรวจวัดหาปริมาณซีสเทอีนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารได้

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จในการพัฒนาชุดเครื่องมือต้นแบบสำหรับตรวจวัดซีสเทอีนในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารแบบอัดโนมิตโดยใช้อนุภาคทองคำนาโนเป็นเซนเซอร์ในการตรวจวัด ซึ่งอนุภาคทองคำนาโนสังเคราะห์ด้วยวิธี Turkevich โดยอาศัยปฏิกิริยารีดักชันของกรดเตตระคลอโรอริก ( $\text{HAuCl}_4$ ) ด้วยไตรโซเดียมไซเตรต จากนั้นนำ AuNPs ที่สังเคราะห์ได้มาตรวจวัดซีสเทอีนโดยใช้ระบบ SIA และโปรแกรมควบคุมที่พัฒนาขึ้น และได้ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทดลอง ซึ่งสภาวะที่เหมาะสมคือ สารละลาย AuNPs ที่ไม่ปรับพีเอช (pH 5.3) เข้มข้น 3.84 นาโนโมลาร์ สารละลายไซเตรตคลอไรด์เข้มข้น 0.2 โมลาร์ และ mixing coil ยาว 100 เซนติเมตร ตรวจวัดที่นาที่ที่ 1 และทำการตรวจวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร

จากการทดลองพบว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นมานี้มีความจำเพาะเจาะจงสูง และมีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ที่ดี โดยได้ช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0 – 40 ไมโครโมลาร์ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ต่ำกว่าร้อยละ 0.5 ค่าร้อยละการวิเคราะห์คืนกลับ 96.0 – 106.0 มีค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.11 และ 0.36 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ และเมื่อนำมาประยุกต์ใช้กับตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารพบว่าได้ค่าความเข้มข้นที่ใกล้เคียงกับที่ระบุไว้บนฉลาก ดังนั้นจึงสรุปวิธีที่พัฒนาขึ้นมานี้มีความแม่นยำและความเที่ยงสูง สามารถประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดซีสเทอีนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารได้

## เอกสารอ้างอิง

- [1] <http://www.greenclinic.in.th/cystine.html>
- [2] อริน วิกุล, กลูตาไธโอน (Glutathione, GSH), วารสาร เพื่อการวิจัยและพัฒนา องค์การเภสัชกรรม, ปีที่ 22 ฉบับที่ 2 เดือนเมษายน - มิถุนายน 2558
- [3] ประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (พ.ศ. 2549) เรื่อง ข้อกำหนดการใช้ส่วนประกอบที่สำคัญของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารชนิดกรดอะมิโน ดีพิมพ์ในราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศและงานทั่วไป เล่ม 123 ตอนพิเศษ 111 ง ลงวันที่ 18 ตุลาคม พ.ศ.2549
- [4] <http://www.flowinjection.com>
- [5] <http://www.greenclinic.in.th/cystine.html>
- [6] <http://en.wikipedia.org/wiki/Cysteine>
- [7] <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Lcysteine#section=Depositor-Supplied-Synonyms>
- [8] <http://www.healthaliciousness.com/articles/high-cysteine-foods.php>
- [9] [http://www.wiley-vch.de/books/sample/3527331972\\_c01.pdf](http://www.wiley-vch.de/books/sample/3527331972_c01.pdf)
- [10] อภิวัฒน์ ชมพูสอ, ว.วิทยา. มข., 2556, 41, 859-872
- [11] ศิริวรรณ ตี๋ภู, J. Sci. Technol. MSU, 2013, 41, 237-245
- [12] [http://archive.lib.cmu.ac.th/full/T/2552/aphys0852pp\\_ch2.pdf](http://archive.lib.cmu.ac.th/full/T/2552/aphys0852pp_ch2.pdf)
- [13] มหาวิทยาลัยขอนแก่น. “การวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนักในดินด้วยเครื่องอะตอมมิกแอบซอพชันสเปกโทรสโกปี.”
- [14] ยุพา ชาญวิกรัย และ ดร.นพ. ประสงค์ เทียนบุญ. “เมลามีน (Melamine).” Thai Journal of Clinical Nutrition, 2010, 4
- [15] G. Guiochon, J. Chromatogr. A, 2007, 1168, 101-168
- [16] R. Saetre and D. L. Rabenstein, J. Agric. Food Chem., 1978, 26, 982-983
- [17] G. Chwatko, E. Kuzniak, P. Kubalczyk, K. Borowczyk, M. Wyszczelska-Rokiel and R. Głowacki, Anal. Methods, 2014, 6, 8039-8044
- [18] F. Bamdad, F. Khorram, M. Samet, K. Bamdad, M.R. Sangi and F. Allahbakhshi, Spectrochim. Acta A mol. Biomol. Spectrosc, 2016, 161, 52-57
- [19] K. Farhadi, M. Forough, A. Pourhossein and R. Molaei, Sens. Actuators. B, 2014, 202, 993-1001
- [20] X. Wei, L. Qi, J. Tan, R. Liu and F. Wang, Anal. Chim. Acta, 2010, 77, 80-84
- [21] J. Wang, Y.F. Li, C.Z. Huang and T. Wu, , Anal. Chim. Acta, 2008, 626, 37-43
- [22] Z. Chen, S. Luo, C. Liu and Q. Cai, Anal. Bioanal. Chem., 2009, 395, 489-494
- [23] Q. Qin, J. Deng, D. Wang, L. Yang, P. Yu and L. Mao, Anal. Chem., 2012, 84, 9579-9584

[24] S. Jongjinakool, K. Palasak, N. Bousod and S. Teepoo, *Energy Procedia*, 2014, 56, 10 – 18

[25] L. Li and B. Li, *Analyst*, 2009, 134, 1361–1365

[26] M.R. Hormozi-Nezhad, E. Seyedhosseini, H. Robotjazi, *Scientia Iranica F*, 2012, 19, 993-1001

---

---

## ภาคผนวก

**ภาคผนวก ก**  
**สรุปค่าใช้จ่ายการดำเนินงานโครงการวิจัย**

หมวดค่าใช้จ่าย	ค่าใช้จ่าย (บาท)
<b>งบบุคลากร</b>	
ค่าจ้างชั่วคราว	93,600
<b>งบดำเนินงาน</b>	
ค่าใช้สอย	110,000
ค่าวัสดุ	146,400
ค่าสาธารณูปโภค	-
<b>งบลงทุน: ค่าครุภัณฑ์</b>	-
<b>รวมงบประมาณที่จ่ายไปแล้ว</b>	<b>350,000</b>

## ประวัตินักวิจัย

ชื่อ-นามสกุล (ภาษาไทย) นายณัฐวุฒิ เชิงชัน

ชื่อ-นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mr. Nathawut Choengchan

ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์

หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้สะดวก

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

โทรศัพท์: 02-326-4344 โทรสาร: 02-326-4354

E-mail: kcnathaw@kmitl.ac.th และ nchoengchan@gmail.com

### ประวัติการศึกษา

ปีที่จบ การศึกษา	วุฒิการศึกษา	อักษรย่อ ปริญญาและชื่อเต็ม	สาขาวิชา	สถาบันการศึกษา
2542	ปริญญาตรี	วท.บ. (เคมี)	เคมี	มหาวิทยาลัยมหิดล
2545	ปริญญาโท	วท.ม. (เคมี)	เคมีวิเคราะห์และเคมี อินทรีย์ประยุกต์	มหาวิทยาลัยมหิดล
2549	ปริญญาเอก	Ph. D. (Analytical Chemistry)	เคมีวิเคราะห์	มหาวิทยาลัยมหิดล

### ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

#### หัวหน้าโครงการวิจัย:

ชื่อโครงการ: อุปกรณ์ร่องขนาดเล็ก: การออกแบบและการประยุกต์ใช้กับระบบวิเคราะห์ที่อาศัยการไหล

แหล่งทุน: ทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานของอาจารย์รุ่นใหม่ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ปี 2552

ชื่อโครงการ: ชุดเครื่องมือขนาดเล็กแบบพกพาได้สำหรับการวินิจฉัยโรคไตนอกห้องปฏิบัติการ

แหล่งทุน: กองทุนวิจัย สจล. ปี 2552

ชื่อโครงการ: การพัฒนาวิธีวิเคราะห์แบบอัตโนมัติเพื่อหาปริมาณเอทานอลและอะซิโตนดีไฮด์ในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์พื้นบ้านของไทย

แหล่งทุน: เงินรายได้ คณะวิทยาศาสตร์ สจล. ปี 2552

ชื่อโครงการ: ชุดต้นแบบสำหรับตรวจวัดอะซีทิลดีไฮด์และฟอร์มาลดีไฮด์ในอากาศ

แหล่งทุน: เงินรายได้ คณะวิทยาศาสตร์ สจล. ปี 2553

ชื่อโครงการ: ชุดต้นแบบเพื่อทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของผักและผลไม้แบบอัตโนมัติ

แหล่งทุน: เงินรายได้ คณะวิทยาศาสตร์ สจล. ปี 2554

ชื่อโครงการ: ชุดเครื่องมือต้นแบบชนิดรู้ผลเร็วสำหรับวิเคราะห์เอทานอลและอะซีทิลดีไฮด์ในเครื่องดื่มสุรา  
ชุมชน

แหล่งทุน: เงินงบประมาณแผ่นดิน ปีงบประมาณ 2554

ชื่อโครงการ: เครื่องมือต้นแบบสำหรับสกัดและแยกองค์ประกอบน้ำส้มควันไม้

แหล่งทุน: เงินรายได้ คณะวิทยาศาสตร์ สจล. ปี 2555

ชื่อโครงการ: ชุดเครื่องมือต้นแบบอัตโนมัติสำหรับประเมินฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของน้ำส้มควันไม้

แหล่งทุน: เงินงบประมาณแผ่นดิน ปีงบประมาณ 2555

### งานวิจัยที่ทำสำเร็จแล้ว

1. Choengchan N, Uraisin K, Choden K, Veerasai W, Grudpan K, Nacapricha D. (2002) Simple Flow Injection System for Colorimetric Determination of Iodate in Iodized Salt. *Talanta* 58: 1195-1201. (impact factor = 2.391) ที่มา : Journal Citation Reports, 2005.
2. Choengchan N, Lukkanakul K, Ratanawimarnwong N, Waiyawat W, Wilairat P, Nacapricha D. (2003) Use of Pseudo-First Order Kinetics in Flow Injection for Determination of Trace Inorganic Iodine. *Anal. Chim. Acta* 499: 115-122. (impact factor = 2.760) ที่มา : Journal Citation Reports, 2005.
3. Ratanawimarnwong N, Amornthammarong N, Choengchan N, Chaisuwan P, Amatongchai M, Wilairat P, McKelvie I D, Nacapricha D. (2005) Determination of iodide by detection of iodine using gas-diffusion flow injection and chemiluminescence. *Talanta*, 65: 756-761. ( impact factor = 2.391) ที่มา : Journal Citation Reports, 2005.
4. Choengchan N, Mantim T, Wilairat P, Dasgupta P K, Motomizu S, Nacapricha D (2006) A membraneless gas diffusion unit: Design and its application to determination of ethanol in liquors by spectrophotometric flow injection. *Anal. Chim. Acta* 579: 33-37 (impact factor = 2.760) ที่มา : Journal Citation Reports, 2005.

5. Muncharoen S, Sitanurak J, Tiyapongpattana W, Choengchan N, Ratanawimarnwong N, Motomizu S, Wilairat P, Nacapricha D (2009) Quality control of gasohol using a micro-unit for membraneless gas diffusion, *Microchim Acta* 164: 203–210 (impact factor = 1.237) <sup>1</sup>  $\frac{1}{1}$ : Journal Citation Reports, 2006.
6. K. Sereenonchai, S. Teerasong, S. Chan-Eam, P. Saetear, N. Choengchan, K. Uraisin, N. Amornthammarong, S. Motomizu and D. Nacapricha, A low-cost method for determination of calcium carbonate in cement by membraneless vaporization with capacitively coupled contactless conductivity detection *Talanta* 81 (2010) 1040-1044. (Impact factor 2009 = 3.206)
7. S. Janya, P. Sastranurak, T. Mantim, N. Chauyprasatwattana, C. Boonpanaid, N. Choengchan, D. Nacapricha and K. Uraisin, “An automatic phosphate analyzer by cross injection analysis”, *Pure and Applied Chemistry Conference (PACCON) proceedings 2010, Jan. 21-23, 2010, Ubon Rachathani University, Ubon Rachathani, Thailand*, p. 33-36.
8. P. Inpota, A. Kongsakphaisal, D. Nacapricha and N. Choengchan, “Selective determination of acetaldehyde by membrane permeation with spectrophotometric flow injection” *Pure and Applied Chemistry Conference (PACCON) proceedings 2010, Jan. 21-23, 2010, Ubon Rachathani University, Ubon Rachathani, Thailand*, p. 37-40.
9. S. Kokilarat, S. Teerasong, D. Nacapricha, N. Maneerat and N. Choengchan “AUTOMATED SIMULTANEOUS INJECTION SYSTEM FOR DETERMINATION OF PHOSPHATE AND AMMONIUM” *Pure and Applied Chemistry Conference (PACCON) proceedings, 2011, Srinakarinwirote University, Bangkok, Thailand*
10. P. Inpota, S. Teerasong, A. Kongsakphaisal, N. Maneerat, D. Nacapricha and N. Choengchan “PARALLEL CROSS INJECTION ANALYSIS SYSTEM FOR DETERMINATION OF ALBUMIN TO CREATININE RATIO IN URINE” *Pure and Applied Chemistry Conference (PACCON) proceedings, 2011, Srinakarinwirote University, Bangkok, Thailand*
11. B. Poontong, N. Maneerat and N. Choengchan, “MEMBRANELESS GAS-DIFFUSION UNIT WITH FLOW-BASED TECHNIQUE FOR DETERMINATION OF ACETALDEHYDE” *Pure and Applied Chemistry Conference (PACCON) proceedings, 2012, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand*
12. S. Phanrudee, N. Choengchan, and P. Charoenying “METHOD DEVELOPMENT FOR EVALUATION OF TOTAL ANTI-OXIDANT CAPACITY OF *Tagetes erecta* Linn. FLOWEREXTRACT” *Pure and Applied Chemistry Conference (PACCON) proceedings, 2012, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand*

13. A. Mathaweesansum, N. Maneerat and N. Choengchan, "A MOBILE PHONE-BASED ANALYZER FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF URINARY ALBUMIN USING SELF-CALIBRATION APPROACH" *Sensors and Actuators B*, 242: 476–483 (impact factor = 4.582), 2017.

---

---