

การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองด้วยไซยาโนแบคทีเรียที่อยู่ในระบบน้ำหล่อเย็นแบบไหลวนเปิด



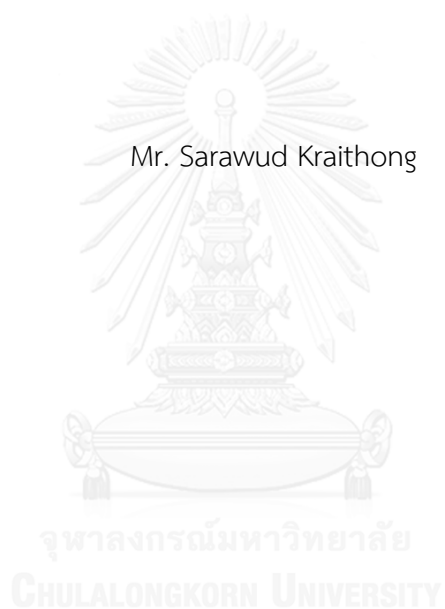
บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)  
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมเคมี  
คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ปีการศึกษา 2558  
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Synthesis of gold nanoparticles using cyanobacteria from open-  
recirculating cooling system

Mr. Sarawud Kraithong



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Engineering Program in Chemical Engineering

Department of Chemical Engineering

Faculty of Engineering

Chulalongkorn University

Academic Year 2015

Copyright of Chulalongkorn University

|                                 |   |
|---------------------------------|---|
| หัวข้อวิทยานิพนธ์               | การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองด้วยไซยาโนแบคทีเรียที่<br>อยู่ในระบบน้ำหล่อเย็นแบบไหลวนเปิด |
| โดย                             | นายสรรวุฒิ ไกรทอง   |
| สาขาวิชา                        | วิศวกรรมเคมี  |
| อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก | ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณัฐพร โทณานนท์   |

---

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วน  
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์  
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุพจน์ เตชวรสินสกุล)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ  
(ศาสตราจารย์ ดร. ไพศาล กิตติศุภกร)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณัฐพร โทณานนท์)

.....กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร. สิริรุ่ง ปรีชานนท์)

.....กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รุ่งอรุณ วาติณี สิริศรีธธา)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย  
(นาย ปรีชา แสงธีระปิติกุล)

สรารุณี ไกรทอง : การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองด้วยไซยาโนแบคทีเรียที่อยู่ในระบบน้ำหล่อเย็นแบบไหลวนเปิด (Synthesis of gold nanoparticles using cyanobacteria from open-recirculating cooling system) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผศ. ดร. ณัฐพร โทณานนท์, 97 หน้า.

ไซยาโนแบคทีเรียที่เจริญในระบบน้ำหล่อเย็นของบริษัทสยามพริท จำกัด ถูกนำมาใช้เป็นตัวรีดิวซ์ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง โดยศึกษาเปรียบเทียบรูปร่างและขนาดของอนุภาคนาโนทองจากการใช้ไซยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำเย็นของกระบวนการผลิตพริทและไซยาโนแบคทีเรียที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อนุภาคนาโนทองที่ได้ด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrometer และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) ผลการทดลองพบว่าเวลาที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองคือ 16 ชั่วโมง ปริมาณไซยาโนแบคทีเรียที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้อนุภาคนาโนทองที่เป็นทรงกลมมีขนาดเล็กลง การนำไซยาโนแบคทีเรียที่มีอายุ 3 สัปดาห์มาสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองส่งผลให้อนุภาคมีการกระจายตัวมากขึ้นและมีขนาดเล็กลงเมื่อเปรียบเทียบกับไซยาโนแบคทีเรียที่มีอายุน้อยกว่า ผลการเปรียบเทียบอนุภาคนาโนทองที่ใช้ไซยาโนแบคทีเรียจากระบบน้ำหล่อเย็นในโรงงานและจากห้องปฏิบัติการเป็นตัวรีดิวซ์พบว่าอนุภาคนาโนทองที่ได้มีรูปร่างและขนาดใกล้เคียงกัน โดยภาวะที่เหมาะสมของการใช้ไซยาโนแบคทีเรียจากระบบน้ำหล่อเย็นคือ ไซยาโนแบคทีเรียที่มีอายุ 3 สัปดาห์ ปริมาณ 0.30 กรัม ซึ่งอนุภาคที่ได้มีลักษณะเป็นทรงกลมและมีขนาด 10-15 นาโนเมตร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาควิชา วิศวกรรมเคมี

ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....

ปีการศึกษา 2558

# # 5670419821 : MAJOR CHEMICAL ENGINEERING

KEYWORDS: CYANOBACTERIA, GOLD NANOPARTICLES, GREEN SYNTHESIS, NANOPARTICLE

SARAWUD KRAITHONG: Synthesis of gold nanoparticles using cyanobacteria from open-recirculating cooling system. ADVISOR: ASST. PROF. NATTAPORN TONANON, D.Eng., 97 pp.

Cyanobacteria from open-recirculating cooling system in Siam Frit Co., LTD, were used as a reducing agent for synthesis of gold nanoparticles (AuNPs). The size and shape of AuNPs reduced by cyanobacteria from frit cooling system and cyanobacterial culture in laboratory were compared. The synthesized AuNPs were characterized by UV-Vis spectrometer and transmission electron microscopy (TEM). The results showed that the reaction time is 16h, increasing of cyanobacterial quantity led to decreasing the size of the spherical AuNPs. Three weeks old cyanobacterial culture yielded more dispersed and smaller AuNPs compared with AuNPs reduced by shorter culture time cyanobacteria. The comparison between cyanobacteria from frit cooling system and cyanobacterial culture in laboratory showed that the particles were similar in sizes and shapes. The optimal synthesis condition of AuNPs by cyanobacteria from frit cooling system were 0.30 g of 3 weeks old cyanobacterial yielded nearly spherical AuNPs with 10–15 nm in diameter.



Department: Chemical Engineering

Student's Signature .....

Field of Study: Chemical Engineering

Advisor's Signature .....

Academic Year: 2015

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ด้วยความช่วยเหลือจากผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณัฐพร โทณานนท์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งท่านได้ให้ความรู้ ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่าง ๆ อันเป็นประโยชน์ในการทำงานวิจัยเป็นอย่างยิ่ง อีกทั้งยังช่วยแก้ปัญหาต่างๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างการดำเนินงานจนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณประธานการสอบวิทยานิพนธ์ ศาสตราจารย์ ดร.ไพศาล กิตติศุภกร และกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร.สิริรุ่ง ปรีชานนท์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รุ่งอรุณ วาติถิ สิริศรัทธา และนายปรีชา แสงธีระปิติกุล ที่สละเวลาในการสอบวิทยานิพนธ์ตลอดจนคำปรึกษาที่มีประโยชน์ยิ่ง ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รุ่งอรุณ วาติถิ สิริศรัทธา ที่อำนวยความสะดวกในการใช้อุปกรณ์เครื่องมือและสถานที่ห้องปฏิบัติการสำหรับการทำงานวิจัยตลอดจนคำแนะนำต่างๆที่มีประโยชน์เป็นอย่างยิ่ง

ขอขอบพระคุณบริษัทสยามพริท จำกัด ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และให้ความอนุเคราะห์ในการเลี้ยงและเก็บเกี่ยวไซยาโนแบคทีเรียเพื่อนำมาศึกษาในงานวิจัยครั้งนี้

สุดท้ายนี้ ขอขอบพระคุณบิดา มารดา ตลอดจนครอบครัวและผู้ที่เกี่ยวข้อง ที่คอยให้กำลังใจและสนับสนุนในด้านต่างๆ จนทำให้สำเร็จการศึกษาครั้งนี้

## สารบัญ

|  | หน้า |
|--|------|
| บทคัดย่อภาษาไทย.....   | ง    |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....  | จ    |
| กิตติกรรมประกาศ.....   | ฉ    |
| สารบัญ.....  | ช    |
| สารบัญตาราง.....   | ฅ    |
| สารบัญภาพ .....  | ฉ    |
| บทที่ 1 บทนำ.....  | 16   |
| 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ .....                                       | 16   |
| 1.2 วัตถุประสงค์.....  | 17   |
| 1.3 ขอบเขตงานวิจัย .....   | 17   |
| 1.4 ประโยชน์ที่ได้รับ.....   | 18   |
| บทที่ 2 ทฤษฎีและเอกสารงานวิจัย .....                                   | 19   |
| 2.1 อนุภาคนาโนทอง .....  | 19   |
| 2.2 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง.....                                    | 20   |
| 2.3 ไซยาโนแบคทีเรีย (Cyanobacteria) .....                              | 27   |
| 2.4 กลไกการเกิดอนุภาคนาโนทอง.....                                      | 28   |
| 2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองด้วยสาหร่าย ..... | 29   |
| บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย .....                                    | 32   |
| 3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง.....                             | 32   |
| 3.2 ขั้นตอนการทดลอง .....  | 34   |
| บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล .....                                   | 37   |
| 4.1 การวิเคราะห์สเปกตรัมของไซยาโนแบคทีเรีย .....                       | 39   |

|   |    |
|---|----|
| 4.2 การศึกษาการเวลาการเกิดอนุภาคนาโนทอง .....   | 41 |
| 4.3 การศึกษาผลของปริมาณของไซยาโนแบคทีเรียที่มีต่อการสังเคราะห์อนุภาคทอง .....   | 43 |
| 4.4 การศึกษาผลของอายุไซยาโนแบคทีเรียที่มีต่อการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง .....  | 50 |
| 4.5 การเปรียบเทียบลักษณะอนุภาคนาโนทองจากการใช้ผงไซยาโนแบคทีเรียจาก<br>ห้องปฏิบัติการและจากระบบน้ำหล่อเย็นในโรงงาน ..... | 57 |
| บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ .....   | 71 |
| 5.1 สรุปผลการวิจัย .....  | 71 |
| 5.2 ข้อเสนอแนะ .....  | 71 |
| รายการอ้างอิง .....   | 72 |
| ภาคผนวก.....  | 78 |
| 1 สูตรอาหารไซยาโนแบคทีเรีย BG11 .....   | 78 |
| 2 ผลการวิเคราะห์ลำดับเบส DNA.....   | 79 |
| 3 ผลการเปรียบเทียบข้อมูล ผลิตภัณฑ์ PCR กับ ฐานข้อมูล GenBank.....   | 80 |
| 4. สูตรการคำนวณ การหาการกระจายตัวของอนุภาค.....   | 89 |
| 5. รูปแสดงตัวอย่างการวัดขนาดด้วยโปรแกรม SemAfore 5.21 .....   | 89 |
| 6. กราฟแสดงการกระจายตัวของอนุภาค .....  | 90 |
| ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ .....  | 97 |



## สารบัญตาราง

หน้า

|   |    |
|---|----|
| ตารางที่ 2.1 แสดงข้อดีและข้อเสียของการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองด้วยวิธีต่างๆ .....  | 25 |
| ตารางที่ 2.2 แสดงการเปรียบเทียบคุณสมบัติของอนุภาคนาโนทองจากการสังเคราะห์ด้วยวิธีต่างๆ.....  | 26 |
| ตารางที่ 2.3 แสดงสิ่งมีชีวิตที่นำมาสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง ขนาดและรูปร่างอนุภาคนาโนทองที่สังเคราะห์ได้.....   | 31 |
| ตารางที่ 3.1 แสดงอายุและปริมาณไซยาโนแบคทีเรียที่ใช้เปรียบเทียบลักษณะอนุภาคนาโนทองที่ได้ระหว่างไซยาโนแบคทีเรียจากระบบน้ำหล่อเย็นและไซยาโนแบคทีเรียที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ.....   | 36 |
| ตารางที่ 4.1 ผลวิเคราะห์ธาตุในน้ำจากระบบน้ำหล่อเย็นของบริษัทสยามพริท จำกัด ด้วยวิธี ICP - OES (Inductively Couple Plasma) สถาบันวิจัยและพัฒนาอัญมณีและเครื่องประดับแห่งชาติ (องค์การมหาชน) (สวอ).....   | 37 |
| ตารางที่ 4.2 รูปจาก TEM แสดงลักษณะอนุภาคนาโนทองที่ได้จากการรีดิวซ์สารละลายทองด้วยไซยาโนแบคทีเรียจากระบบน้ำหล่อเย็นในโรงงานที่มีอายุ 2 สัปดาห์ ด้วยปริมาณต่างๆ.....  | 46 |
| ตารางที่ 4.3 ตารางแสดงลักษณะรูปร่างและขนาดของอนุภาคนาโนทอง ที่ได้จากการรีดิวซ์สารละลายด้วยผงไซยาโนแบคทีเรียที่เจริญในระบบน้ำหล่อเย็นอายุ 2 สัปดาห์ ในปริมาณต่าง ซึ่งวิเคราะห์ลักษณะรูปร่างอนุภาคจากรูป TEM และวิเคราะห์ขนาดอนุภาคด้วยโปรแกรม SemAfore 5.21 จากรูป TEM ..... | 48 |
| ตารางที่ 4.4 แสดงรูปอนุภาคนาโนทองจากไซยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็นของโรงงาน ที่มีอายุ 1, 2 และ 3 สัปดาห์ เป็นตัวรีดิวซ์ ด้วยปริมาณ 0.20 กรัม ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน .....  | 51 |
| ตารางที่ 4.5 แสดงรูปอนุภาคนาโนทองจากไซยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็นของโรงงาน ที่มีอายุ 1, 2 และ 3 สัปดาห์ เป็นตัวรีดิวซ์ ด้วยปริมาณ 0.25 กรัม ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน .....  | 52 |

|   |    |
|---|----|
| ตารางที่ 4.6 รูปจาก TEM แสดงรูปอนุภาคนาโนทองจากไซยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็น<br>ของโรงงาน ที่มีอายุ 2 และ 3 สัปดาห์ เป็นตัวรีดิวซ์ ด้วยปริมาณ 0.30 กรัม ภายใต้<br>กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน .....  | 53 |
| ตารางที่ 4.7 แสดงผลการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองด้วยไซยาโนแบคทีเรียที่เจริญในระบบน้ำ<br>หล่อเย็นใน โรงงานที่มีอายุ 1-3 สัปดาห์ ด้วยปริมาณผงไซยาโนแบคทีเรีย 0.20<br>และ 0.25 กรัม ซึ่งวิเคราะห์ลักษณะรูปร่างอนุภาคด้วยภาพจากรูป TEM และ<br>วิเคราะห์ขนาดอนุภาคด้วยโปรแกรม SemAfore 5.21 จากรูป TEM..... | 54 |
| ตารางที่ 4.8 รูปจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) แสดงลักษณะรูปร่างและ<br>ขนาดของอนุภาคนาโนทอง จากการรีดิวซ์ด้วยไซยาโนแบคทีเรียจากห้องปฏิบัติการ<br>และในระบบน้ำหล่อเย็น อายุ 1 สัปดาห์ ปริมาณ 0.20 กรัม.....  | 58 |
| ตารางที่ 4.9 รูปจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) แสดงลักษณะรูปร่างและ<br>ขนาดของอนุภาคนาโนทอง จากการรีดิวซ์ด้วยไซยาโนแบคทีเรียจากห้องปฏิบัติการ<br>และในระบบน้ำหล่อเย็น อายุ 1 สัปดาห์ ปริมาณ 0.25 กรัม.....  | 59 |
| ตารางที่ 4.10 รูปจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) แสดงลักษณะรูปร่างและ<br>ขนาดของอนุภาคนาโนทอง จากการรีดิวซ์ด้วยไซยาโนแบคทีเรียจากห้องปฏิบัติการ<br>และในระบบน้ำหล่อเย็น อายุ 2 สัปดาห์ ปริมาณ 0.15 กรัม.....   | 60 |
| ตารางที่ 4.11 รูปจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) แสดงลักษณะรูปร่างและ<br>ขนาดของอนุภาคนาโนทอง จากการรีดิวซ์ด้วยไซยาโนแบคทีเรียจากห้องปฏิบัติการ<br>และในระบบน้ำหล่อเย็น อายุ 2 สัปดาห์ ปริมาณ 0.20 กรัม.....   | 61 |
| ตารางที่ 4.12 รูปจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) แสดงลักษณะรูปร่างและ<br>ขนาดของอนุภาคนาโนทอง จากการรีดิวซ์ด้วยไซยาโนแบคทีเรียจากห้องปฏิบัติการ<br>และในระบบน้ำหล่อเย็น อายุ 2 สัปดาห์ ปริมาณ 0.25 กรัม.....   | 62 |
| ตารางที่ 4.13 รูปจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) แสดงลักษณะรูปร่างและ<br>ขนาดของอนุภาคนาโนทอง จากการรีดิวซ์ด้วยไซยาโนแบคทีเรียจากห้องปฏิบัติการ<br>และในระบบน้ำหล่อเย็น อายุ 2 สัปดาห์ ปริมาณ 0.30 กรัม.....   | 63 |

|   |    |
|---|----|
| ตารางที่ 4.14 รูปจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) แสดงลักษณะรูปร่างและขนาดของอนุภาคนาโนทอง จากการรีดิวซ์ด้วยไซยาโนแบคทีเรียจากห้องปฏิบัติการและในระบบน้ำหล่อเย็น อายุ 3 สัปดาห์ ปริมาณ 0.20 กรัม..... | 64 |
| ตารางที่ 4.15 รูปจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) แสดงลักษณะรูปร่างและขนาดของอนุภาคนาโนทอง จากการรีดิวซ์ด้วยไซยาโนแบคทีเรียจากห้องปฏิบัติการและในระบบน้ำหล่อเย็น อายุ 3 สัปดาห์ ปริมาณ 0.25 กรัม..... | 65 |
| ตารางที่ 4.16 รูปจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) แสดงลักษณะรูปร่างและขนาดของอนุภาคนาโนทอง จากการรีดิวซ์ด้วยไซยาโนแบคทีเรียจากห้องปฏิบัติการและในระบบน้ำหล่อเย็น อายุ 3 สัปดาห์ ปริมาณ 0.30 กรัม..... | 66 |
| ตารางที่ 4.17 แสดงข้อมูลเปรียบเทียบรูปร่างและขนาดอนุภาคที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยไซยาโนแบคทีเรียจากระบบน้ำหล่อเย็นและห้องปฏิบัติการ ที่อายุและปริมาณผงไซยาโนแบคทีเรียต่างๆ.....                                   | 67 |
| ตารางที่ 4.18 แสดงข้อมูลการเปรียบเทียบอนุภาคนาโนทองที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยไซยาโนแบคทีเรียจากระบบน้ำหล่อเย็นและจากห้องปฏิบัติการ .....  | 68 |
| ตารางที่ ก 1 แสดงผลของสายพันธุ์หรือส่วนที่มี DNA คล้ายกับผลิตภัณฑ์ PCR ตัวอย่างจากผลิตภัณฑ์ PCR สาย (106F781) และ 106F(1).....  | 80 |
| ตารางที่ ก 2 แสดงผลของสายพันธุ์หรือส่วนที่มี DNA คล้ายกับผลิตภัณฑ์ PCR ตัวอย่างจากผลิตภัณฑ์ PCR ตัวอย่าง สาย (106781R) และ 781R(1).....   | 85 |

สารบัญภาพ

หน้า

รูปที่ 2.1 แสดงการเกิดเซอร์เฟส พลาสมอน เรโซแนนซ์ (SPR) เมื่อแสงตกกระทบกับ อิเล็กตรอนอิสระในอนุภาคโลหะจึงทำให้เกิดการสั่น ..... 19

รูปที่ 2.2 แสดงเครื่องปฏิกรณ์การสลายตัวด้วยความร้อน โดยหมายเลข 1คือเตาปฏิกรณ์ 2 คือ ท่อแก้วควอทซ์ 3 คือถ้วยเซรามิค 4 คือทางเข้าของก๊าซ 5 คือ ท่อทางออกก๊าซ 6 คือ ตัวดักจับผงโลหะ และ 7 คือตัวดักจับโบรไมด์ ..... 21

รูปที่ 2.3 แสดงระบบการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองด้วย Arc Discharge แบบกระแสตรงในน้ำที่ ปราศจากไอออน ..... 21

รูปที่ 2.4 แสดงระบบในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองด้วยเลเซอร์ ..... 22

รูปที่ 2.5 แสดงกลไกการเกิดอนุภาคนาโนทอง โดยการใช้ไซเตรตเป็นสารรีดิวซ์สารละลายกรด คลอโรอริก (HAuCl<sub>4</sub>) ..... 22

รูปที่ 2.6 แสดงแผนผังการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองด้วยวิธีการสังเคราะห์แบบ 2 วัฏภาค ..... 23

รูปที่ 2.7 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (SEM) ของอนุภาคนาโนทองที่ได้จากการรีดิวซ์ สารละลายทองด้วยสารชีวมวลจากสาหร่ายสีน้ำตาล (Fucus vesiculosus)..... 24

รูปที่ 2.8 แสดงกลไกการเกิดอนุภาคนาโนทองจากการไซยาโนแบคทีเรีย Synechocystis ที่มี ชีวิต..... 24

รูปที่ 2.9 แสดงโครงสร้างภายในเซลล์ของไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ Anabaena ที่เจริญในน้ำ จืดตามธรรมชาติ ..... 28

รูปที่ 4.1 ไซยาโนแบคทีเรียที่เจริญในระบบน้ำหล่อเย็น (กลาง) ตาข่ายไนลอนที่ติดตั้งเพิ่มสำหรับเป็น ที่ยึดเกาะของไซยาโนแบคทีเรีย (ขวา) ไซยาโนแบคทีเรียที่เจริญบนอุปกรณ์ที่ติดตั้ง เพิ่ม..... 38

รูปที่ 4.2 (ซ้าย) ไซยาโนแบคทีเรียที่เจริญในระบบน้ำหล่อเย็นก่อนติดตั้งตาข่ายไนลอนภายใต้ กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 1000 เท่า (ขวา) ไซยาโนแบคทีเรียที่เจริญบนตาข่ายไน ลอนในระบบน้ำหล่อเย็นภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า ..... 38

|  |    |
|--|----|
| รูปที่ 4.3 แสดงแถบผลิตภัณฑ์ PCR แถบซ้ายคือ มาร์คเกอร์ แถบกลางคือ ผลิตภัณฑ์ PCR โดยทำการ Electrophoresis ด้วย 1.2% Agarose.....   | 39 |
| รูปที่ 4.4 ไชยาโนแบคทีเรียที่เจริญภายในอาหารแข็ง BG11 (A) อาหารแข็ง BG11 ที่ไม่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ (B) อาหารแข็ง BG11 ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ .....   | 40 |
| รูปที่ 4.5 รูปไชยาโนแบคทีเรียภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่มีกำลังขยาย 10x100 เท่า.....   | 40 |
| รูปที่ 4.6 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย (ไชยาโนแบคทีเรียจากระบบน้ำหล่อเย็นจากโรงงานปริมาณ 30 กรัม อายุ 3 สัปดาห์) ที่เวลาต่างๆ (บน) เวลา 0 – 21 ชั่วโมง (กลาง) 0 - 8 ชั่วโมง (ล่าง) 8-16 ชั่วโมง.....   | 42 |
| รูปที่ 4.7 สารละลายอนุภาคนาโนทองที่สังเคราะห์ด้วยไชยาโนแบคทีเรียจากระบบน้ำหล่อเย็นในโรงงานที่มีอายุ 2 สัปดาห์เป็นตัวรีดิวซ์ ด้วยปริมาณ 0.10, 0.15, 0.20, 0.25, 0.30 กรัม (จากขวดซ้ายมาขวาตามลำดับ).....  | 43 |
| รูปที่ 4.8 แสดงสีของสารละลายอนุภาคนาโนทองและขนาดของอนุภาค .....  | 44 |
| รูปที่ 4.9 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆของสารละลายนาโนทองที่รีดิวซ์ด้วยไชยาโนแบคทีเรียที่เจริญในระบบน้ำหล่อเย็นในโรงงานด้วยปริมาณต่างๆ.....  | 45 |
| รูปที่ 4.10 แสดงแผนภูมิแห่งการกระจายตัวของขนาดอนุภาคนาโนทองที่สังเคราะห์ด้วยไชยาโนแบคทีเรียจากระบบน้ำหล่อเย็นอายุ 2 สัปดาห์ วัดขนาดอนุภาคด้วยโปรแกรม SemAfore 5.21 จากรูป TEM (ก) อนุภาคทรงกลม จากผงไชยาโนแบคทีเรียปริมาณ 0.25 กรัม (ข) อนุภาคไม่มีรูปร่าง จากผงไชยาโนแบคทีเรียปริมาณ 0.25 กรัม (ค) อนุภาคทรงกลม จากผงไชยาโนแบคทีเรียปริมาณ 0.30 กรัม (ง) อนุภาคไม่มีรูปร่าง จากผงไชยาโนแบคทีเรียปริมาณ 0.30 กรัม..... | 47 |
| รูปที่ 4.11 กราฟแสดงผลการวิเคราะห์ธาตุของอนุภาคด้วยเทคนิค EDX จากตัวอย่างที่ใช้ไชยาโนแบคทีเรียจากระบบน้ำหล่อเย็นในโรงงาน .....   | 48 |
| รูปที่ 4.12 แสดงกระบวนการในการเกิดอนุภาคนาโนทองที่ใช้สารชีวโมเลกุลเป็นตัวรีดิวซ์ .....   | 49 |
| รูปที่ 4.13 รูปไชยาโนแบคทีเรียที่เจริญในโรงงาน (ซ้าย) อายุ 1 สัปดาห์ (ขวา) อายุ 3 สัปดาห์ .....  | 50 |
| รูปที่ 4.14 แสดงอนุภาคนาโนทองที่เกิดบริเวณต่างๆของไชยาโนแบคทีเรียแบบเส้นสาย (A) บริเวณผนังเซลล์ (B) บริเวณที่เซลล์เกิดรอยร้าวที่มีสารจากภายในเซลล์ไหลออกมา .....   | 55 |

|              |  |    |
|--------------|--|----|
| รูปที่ 4. 15 | รูปแสดงช่วงการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรีย .....  | 56 |
| รูปที่ ก 1   | ตัวอย่างการวัดขนาดอนุภาคจากภาพ TEM ด้วยโปรแกรม SemAfore 5.21.....  | 89 |
| รูปที่ ก 2   | กราฟแสดงการกระจายตัวของอนุภาคนาโนทองที่มีลักษณะแบบไม่มีรูปทรง จากการใช้ไซยาโนแบคทีเรียปริมาณ 0.25 กรัม ..... | 90 |
| รูปที่ ก 3   | กราฟแสดงการกระจายตัวของอนุภาคนาโนทองทรงกลม จากการใช้ไซยาโนแบคทีเรียปริมาณ 0.25 กรัม.....                     | 90 |
| รูปที่ ก 4   | กราฟแสดงการกระจายตัวของอนุภาคนาโนทองแบบไม่มีรูปทรง จากการใช้ไซยาโนแบคทีเรียปริมาณ 0.25 กรัม .....            | 91 |
| รูปที่ ก 5   | กราฟแสดงการกระจายตัวของอนุภาคนาโนทองทรงกลม จากการใช้ไซยาโนแบคทีเรียปริมาณ 0.25 กรัม.....                     | 91 |
| รูปที่ ก 6   | กราฟแสดงการกระจายตัวของอนุภาคนาโนทองแบบไม่มีรูปทรง จากการใช้ไซยาโนแบคทีเรียปริมาณ 0.25 กรัม .....            | 92 |
| รูปที่ ก 7   | กราฟแสดงการกระจายตัวของอนุภาคนาโนทองทรงกลม จากการใช้ไซยาโนแบคทีเรียปริมาณ 0.30 กรัม.....                     | 92 |
| รูปที่ ก 8   | กราฟแสดงการกระจายตัวของอนุภาคนาโนทองแบบไม่มีรูปทรง จากการใช้ไซยาโนแบคทีเรียปริมาณ 0.30 กรัม .....            | 93 |
| รูปที่ ก 9   | กราฟแสดงการกระจายตัวของอนุภาคนาโนทองทรงกลม จากการใช้ไซยาโนแบคทีเรียปริมาณ 0.20 กรัม.....                     | 93 |
| รูปที่ ก 10  | กราฟแสดงการกระจายตัวของอนุภาคนาโนทองทรงกลม จากการใช้ไซยาโนแบคทีเรียปริมาณ 0.25 กรัม .....                    | 94 |
| รูปที่ ก 11  | กราฟแสดงการกระจายตัวของอนุภาคนาโนทองทรงกลม จากการใช้ไซยาโนแบคทีเรียปริมาณ 0.30 กรัม .....                    | 94 |
| รูปที่ ก 12  | กราฟแสดงการกระจายตัวของอนุภาคนาโนทองทรงกลม จากการใช้ไซยาโนแบคทีเรียปริมาณ 0.20 กรัม .....                    | 95 |

รูปที่ ก 13 กราฟแสดงการกระจายตัวของอนุภาคนาโนทองทรงกลม จากการใช้ไซยาโน  
 แบทที่เรียปริมาณ 0.25 กรัม ..... 95

รูปที่ ก 14 กราฟแสดงการกระจายตัวของอนุภาคนาโนทองทรงกลม จากการใช้ไซยาโน  
 แบทที่เรียปริมาณ 0.30 กรัม ..... 96



## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

ปัจจุบันอนุภาคนาโนทองถูกนำมาใช้งานอย่างแพร่หลาย จากคุณสมบัติที่โดดเด่นแตกต่างจากอนุภาคทองขนาดปกติ โดยอนุภาคนาโนทองเกิดปรากฏการณ์เชิงแสงที่เรียกว่า เซอร์เฟซพลาสมอนเรโซแนนซ์ (surface plasmon resonance, SPR) ทำให้อนุภาคทองสามารถดูดกลืนแสงสีเขียว (ความยาวคลื่นประมาณ 520 นาโนเมตร) ส่งผลให้อนุภาคนาโนทองมีสีแดงทับทิม แต่เมื่ออนุภาครวมตัวกันเป็นกลุ่มก้อนที่มีขนาดใหญ่ขึ้น สีของสารละลายจะเปลี่ยนไป โดยสีที่แสดงคือสีชมพูจนถึงสีม่วง นอกจากนี้อนุภาคนาโนทองมีอัตราส่วนพื้นผิวต่อปริมาตรสูงและมีความจำเพาะต่อหมู่ฟังก์ชันของสารชีวโมเลกุลหลายชนิด คุณสมบัติเหล่านี้ของอนุภาคนาโนทองจึงถูกนำมาประยุกต์ใช้งานอย่างแพร่หลายตัวอย่างเช่น ทางการแพทย์ อนุภาคนาโนทองมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและเชื้อรา ใช้ในระบบนำส่งยาในมนุษย์ การรักษาโรคมะเร็ง การรักษาโรคเบาหวาน การรักษาภาวะเลือดออกผิดปกติ (Bleeding disorder) และสามารถใช้ในการวินิจฉัยและติดตามโรคเพื่อความสะอาดในการรักษา มีการศึกษาพัฒนานำอนุภาคนาโนทองมาใช้เป็น Sensors ทั้งทางชีวภาพและทางเคมี เนื่องจากมีความไวต่อการเกิดปฏิกิริยาและการตอบสนอง นอกจากนี้ยังมีการศึกษานำมาใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาปรับปรุงกระบวนการบางอย่างในอุตสาหกรรมให้มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น [1]

การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองสามารถทำได้หลายวิธีตัวอย่างเช่น วิธีทางกายภาพสามารถทำได้โดยการสลายตัวด้วยความร้อน [2] วิธี Arc discharge [3] วิธี Pulsed laser ablation [4] เป็นต้น โดยวิธีการสังเคราะห์ทางกายภาพนี้ได้อนุภาคนาโนทองที่มีรูปร่างแตกต่างกัน ขนาดไม่สม่ำเสมอ ใช้เวลานาน และกระบวนการสังเคราะห์มีความยุ่งยาก [5] สำหรับวิธีทางเคมีมีวิธีการซับซ้อนและต้องใช้สารเคมีอันตรายเช่น Sodium Borohydride, Hydroxylamine, หรือ Tetrakis(hydroxymethyl)phosphonium Chloride (THPC) อีกทั้งยังต้องใช้สารคงสภาพอนุภาคนาโนทอง เช่น Trioctyl Phosphine Oxide (TOPO) หรือตัวทำละลายอินทรีย์จำพวก Toluene หรือ Chloroform ซึ่งก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมและมีค่าใช้จ่ายในการกำจัดสูง [6] ในขณะที่การสังเคราะห์ทางชีวภาพเป็นวิธีที่ใช้พลังงานน้อย ค่าใช้จ่ายต่ำ ไม่ใช้สารเคมีที่เป็นพิษ และมีความปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม [7] การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองด้วยวิธีทางชีวภาพซึ่งมีผู้ศึกษาในแบคทีเรีย [8] สาหร่าย [9] รา [10] และพืชตระกูลสูง [11]



สำหรับระบบน้ำหล่อเย็นแบบไหลวนเปิดของบริษัทสยามฟริท จำกัด พบว่ามีการเจริญเติบโตของสาหร่ายโดยเฉพาะบริเวณที่ได้รับแสง โดยสาหร่ายเหล่านี้จะได้รับอาหารบางส่วนจากฝุ่นละอองในอากาศบริเวณระบบน้ำหล่อเย็น ทำให้สาหร่ายสามารถเจริญเติบโตและเกาะติดอยู่กับผนังที่มีน้ำไหลผ่าน [12] การเปลี่ยนแปลงสภาวะอากาศในแต่ละฤดูมีผลทำให้สาหร่ายในระบบน้ำหล่อเย็นมีชนิดแตกต่างกันไป เนื่องจากปัจจัยในด้านอุณหภูมิ ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง องค์ประกอบแร่ธาตุในน้ำ ทำให้มีความจำเพาะต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายบางสายพันธุ์ [13] ในระบบน้ำหล่อเย็นบริเวณบ่อน้ำร้อนมีไซยาโนแบคทีเรียแบบเส้นสายเจริญอยู่มากเนื่องจากผนังของเซลล์มีซีท (Sheath) ที่หนาและโปรตีนภายในโปรโตพลาสซึมรวมตัวกันแน่น จึงทำให้ออร์แกนัลภายในทนต่อสภาวะต่างๆ ได้ [14] จึงทำให้ไซยาโนแบคทีเรียส่วนใหญ่มีความทนต่อสภาวะแวดล้อมต่างๆ ได้ดีจึงสามารถเจริญเติบโตในสภาวะได้หลากหลาย เช่น บริเวณน้ำเย็น น้ำพุร้อน หรือน้ำที่มีความเข้มข้นของเกลือสูง [15] นอกจากนี้การบลูมของไซยาโนแบคทีเรียทำให้เกิดสารพิษที่ทำให้เกิดอันตรายต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมหากดื่มกินเข้าไป และทำให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนังและดวงตาหากสัมผัส ดังนั้นการนำไซยาโนแบคทีเรียมาใช้จึงเป็นการลดปัญหาดังกล่าวและสามารถนำมาใช้ให้เกิดประโยชน์อีกด้วย

งานวิจัยนี้ศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองจากการรีดิวซ์สารละลายทองด้วยสาหร่ายสีเขียวแกม น้ำเงินจากกระบวนการหล่อเย็นแบบเปิดในกระบวนการผลิต Frit และศึกษาขนาดลักษณะ รูปร่างอนุภาคนาโนทองที่ได้

## 1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 สังเคราะห์อนุภาคนาโนทองด้วยไซยาโนแบคทีเรียที่เจริญในระบบน้ำหล่อเย็นแบบไหลวนเปิดจากโรงงานอุตสาหกรรม

1.2.2 เปรียบเทียบลักษณะอนุภาคนาโนทองจากการรีดิวซ์ด้วยไซยาโนแบคทีเรียจากระบบน้ำหล่อเย็นแบบไหลวนเปิดในโรงงาน และไซยาโนแบคทีเรียจากระบบน้ำหล่อเย็นแบบไหลวนเปิดในโรงงานที่นำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

1.2.3 วิเคราะห์สายพันธุ์ไซยาโนแบคทีเรียที่เกิดในระบบน้ำหล่อเย็นแบบไหลวนเปิดในโรงงานอุตสาหกรรม

## 1.3 ขอบเขตงานวิจัย

1.3.1 นำไซยาโนแบคทีเรียจากระบบน้ำหล่อเย็นแบบไหลวนเปิดในโรงงาน มาทำให้ปลอดเชื้อ และเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ (ใช้อาหาร BG11, อุณหภูมิห้อง, ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์ 24 ชั่วโมง, ความเร็วในการเขย่า 200 รอบต่อนาที)

1.3.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองโดยใช้ไซยาโนแบคทีเรียรีดิวัลส์สารละลายทอง

- ศึกษาปริมาณไซยาโนแบคทีเรียที่มีอายุ 2 สัปดาห์แบบผงแห้งที่เหมาะสมในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง (10, 15, 20, 25, 30 กรัม)
- ศึกษาอายุของไซยาโนแบคทีเรียที่เหมาะสมกับการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง (1, 2, 3 สัปดาห์)

1.3.3 ศึกษาความแตกต่างของอนุภาคที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยไซยาโนแบคทีเรียจากระบบน้ำหล่อเย็นแบบไหลวนเปิดกับสารร้ายที่นำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ระบุอนุภาคนาโนทองด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer และเปรียบเทียบขนาดและลักษณะรูปร่างของอนุภาคนาโนทองด้วย TEM

1.3.4 ระบุสายพันธุ์หลักของไซยาโนแบคทีเรียที่อยู่ในระบบน้ำหล่อเย็นแบบไหลวนเปิดวิเคราะห์ลำดับเบสบริเวณ 16S rDNA โดยใช้โดยใช้ไพรเมอร์ CYA106F, CYA359F, CYA781R(a) และ CYA781R(b) เพื่อยืนยันผลการระบุสายพันธุ์

## 1.4 ประโยชน์ที่ได้รับ

1.4.1 สามารถนำไซยาโนแบคทีเรียที่เกิดในระบบน้ำหล่อเย็นแบบไหลวนเปิดในโรงงานอุตสาหกรรมมาสร้างมูลค่าเพิ่ม

1.4.2 สภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองจากไซยาโนแบคทีเรียที่เจริญในระบบน้ำหล่อเย็นแบบไหลวนเปิด และความแตกต่างของอนุภาคนาโนทองที่สังเคราะห์ด้วยไซยาโนแบคทีเรียที่เจริญในระบบน้ำหล่อเย็นแบบไหลวนเปิดกับที่นำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

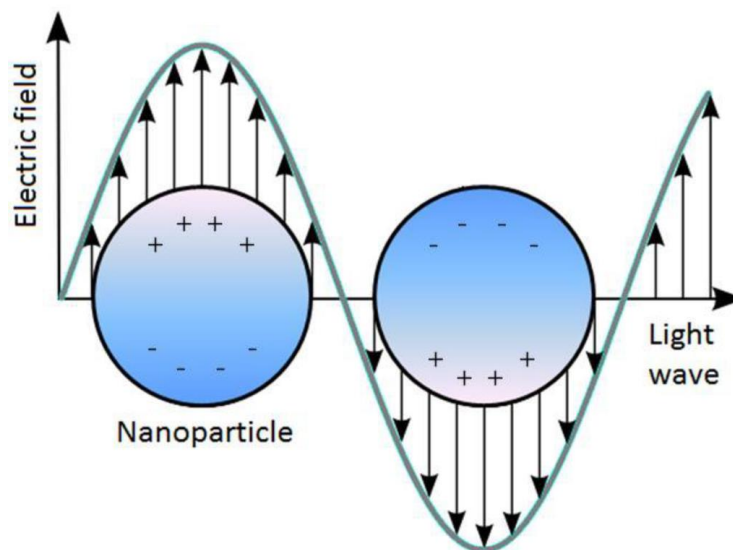
1.4.3 ทราบสายพันธุ์หลักของไซยาโนแบคทีเรียที่เจริญในระบบน้ำหล่อเย็นแบบไหลวนเปิด

## บทที่ 2

### ทฤษฎีและเอกสารงานวิจัย

#### 2.1 อนุภาคนาโนทอง

อนุภาคทองที่มีขนาดอยู่ในระดับนาโนเมตรจะแสดงคุณสมบัติที่แตกต่างไปจากอนุภาคทองที่มีขนาดใหญ่ในสภาวะปกติอนุภาคทองมีสีเหลือง แต่เมื่ออนุภาคมีขนาดอยู่ในระดับนาโนเมตรจะมีสีแดงม่วง ซึ่งลักษณะดังกล่าวนี้เกิดจากปรากฏการณ์เชิงแสงที่เรียกว่า เซอร์เฟซพลาสมอนเรโซแนนซ์ (Surface plasmon resonance, SPR) เป็นปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นกับอนุภาคโลหะที่มีขนาดอยู่ในช่วงนาโนเมตร ซึ่งเกิดจากการทำอันตรกิริยากันระหว่างคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าและอิเล็กตรอนที่ผิวอนุภาคโลหะ ดังแสดงในรูปที่ 2.1 กล่าวคือ เมื่ออิเล็กตรอนที่ผิวโลหะได้รับพลังงานจากคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าจะเกิดการสั่น เมื่อคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่ได้รับมีความถี่เดียวกับความยาวคลื่นที่อิเล็กตรอนของอนุภาคนาโนสั่น จะทำให้เกิดการสั่นพ้อง [16] ส่งผลให้เกิดการกระเจิงแสง (Light scattering) และการดูดกลืนแสง (Light absorption) ซึ่งการดูดกลืนแสงที่เกิดขึ้นนี้ มีค่าเฉพาะขึ้นอยู่กับชนิดโลหะและขนาดรูปร่างของอนุภาคโลหะ จึงทำให้อนุภาคนาโนทองมีสีแตกต่างจากอนุภาคทองขนาดใหญ่ [17] นอกจากนี้อนุภาคนาโนยังมีคุณสมบัติที่ต่างออกไปจากอนุภาคปกติคือ มีอัตราส่วนพื้นที่ผิวต่อปริมาตรสูง ทำให้มีความไวในการเกิดปฏิกิริยา มีความไวในการตอบสนองสูง และมีคุณสมบัติของพลังงานที่พื้นผิวเปลี่ยนไป [18]



รูปที่ 2.1 แสดงการเกิดเซอร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์ (SPR) เมื่อแสงตกกระทบกับอิเล็กตรอนอิสระในอนุภาคโลหะจึงทำให้เกิดการสั่น [19]

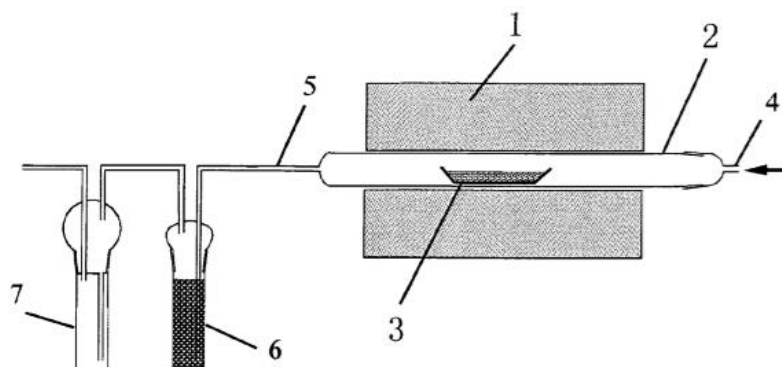
อนุภาคนาโนทองมีการศึกษาและพัฒนาการนำมาใช้อย่างแพร่หลาย ในทางการแพทย์มีผู้ศึกษานำอนุภาคนาโนทองมาใช้ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย เชื้อรา เนื่องจากอนุภาคนาโนทองมีผลต่อสารภายในเซลล์ทำให้กิจกรรมภายในเซลล์ผิดปกติและเซลล์ตายในที่สุด มีการนำอนุภาคนาโนทองมาใช้ในระบบนำส่งยาในมนุษย์ มีผู้ศึกษาทดลองความเข้ากันได้ของเลือดและอนุภาคนาโนทอง พบว่าไม่เกิดการสะสมตัวของเกล็ดเลือดทำให้ระบบหมุนเวียนเลือดทำงานปกติ นำมาใช้ในการวินิจฉัยและการติดตามโรค การการรักษาโรคมะเร็งโดยการเคลือบอนุภาคนาโนทองไปยังบริเวณที่เป็นมะเร็งแล้วฉายคลื่นอินฟราเรดไปยังบริเวณที่เคลือบทำให้เซลล์มะเร็งถูกทำลาย นอกจากนี้ยังสามารถติดตามการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งได้ โดยใช้อนุภาคนาโนทองเข้าสู่เซลล์มะเร็ง และวัดเซลล์ที่มีนาโนทองภายใน การรักษาโรคเบาหวานกล่าวคืออนุภาคนาโนทองจะยับยั้ง Enzyme ที่เกี่ยวข้องในการยับยั้งฮอร์โมน Insulin จึงมีผลทำให้น้ำตาลในเลือดลดลง การรักษาภาวะเลือดออกผิดปกติ (Bleeding disorder) อนุภาคนาโนทองมีความสามารถยับยั้งการจับตัวเป็นก้อนของลิ่มเลือดได้ นอกจากนี้ยังนำอนุภาคนาโนทองมาใช้เป็น Sensors ทั้งทางชีวภาพและทางเคมี เช่น การวัดปริมาณ Peroxides การวัดปริมาณน้ำตาล Glucose ในเลือด นอกจากนี้ยังนำมาใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เช่น ปฏิกิริยาการดูดซับสีย้อม และปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารอินทรีย์ [1]

## 2.2 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง

เนื่องจากอนุภาคนาโนทองเป็นอนุภาคที่มีขนาดอยู่ในช่วง  $10^{-7}$  ถึง  $10^{-9}$  เมตร ดังนั้นการสังเคราะห์อนุภาคจึงทำได้ทั้งการย่อยอนุภาคทองขนาดใหญ่ให้เล็กลงไปอยู่ในขนาดนาโนเมตร หรือสังเคราะห์จากสารละลายทองให้กลายเป็นอนุภาคนาโนทองได้ ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 3 วิธีดังนี้

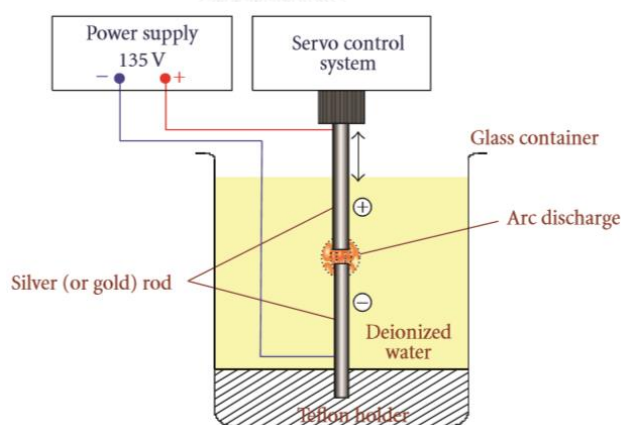
2.2.1 การสังเคราะห์ด้วยวิธีทางกายภาพ เป็นวิธีการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองโดยการใช้ความร้อน ไฟฟ้า และอื่นๆ เพื่อทำให้เกิดอนุภาคนาโนทองดังตัวเช่น

- การสลายตัวด้วยความร้อน เป็นวิธีที่สังเคราะห์อนุภาคนาโนทองโดยการนำสารละลาย Gold Bromide 0.2-0.5 %wt. ลงในน้ำที่ปราศจากไอออน จากนั้นใส่สาร Carrier ลงในสารละลายโดยอัตราส่วนของ Gold Bromide : Carrier คือ 1:1-1:1000 จากนั้นแช่ Carrier ในสารละลาย Gold Bromide เป็นเวลา 4 ชั่วโมงในที่มืด ระบายแห้งสารละลายด้วยอุณหภูมิ 50-90 องศาเซลเซียส บดสารที่ได้จนเป็นผงละเอียด จากนั้นนำไปให้ความร้อน 200-350 องศาเซลเซียส และใช้ก๊าซ Argon ไหลผ่านด้วยอัตราการไหล 10 L/min เป็นเวลา 3 ชั่วโมงอนุภาคนาโนทองจะเกิดขึ้นภายในผงของสารเหล่านี้ ซึ่งลักษณะเครื่องปฏิกรณ์แสดงในรูปที่ 2.2 [2]



รูปที่ 2.2 แสดงเครื่องปฏิบัติการการสลายตัวด้วยความร้อน โดยหมายเลข 1คือเตาปฏิกรณ์ 2 คือท่อแก้วควอทซ์ 3 คือถ้วยเซรามิก 4 คือทางเข้าของก๊าซ 5 คือ ท่อทางออกก๊าซ 6 คือ ตัวดักจับผงโลหะ และ 7 คือตัวดักจับโบรไมด์

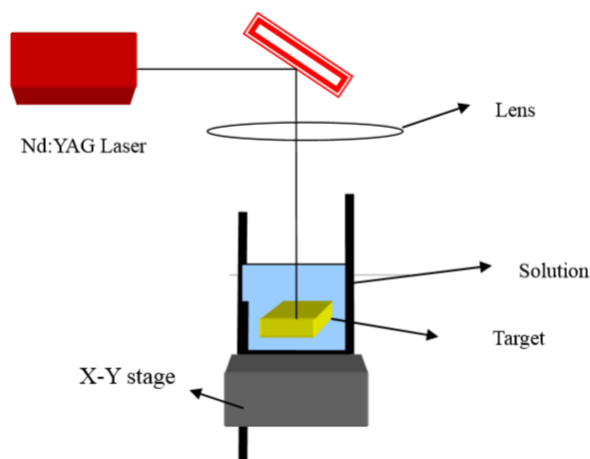
- Arc Discharge แบบกระแสตรงในน้ำที่ปราศจากไอออน เป็นวิธีที่สังเคราะห์โดยการเตรียมแท่งโลหะทองเป็นขั้วไฟฟ้า 2 แท่ง (ขั้วลบและขั้วบวก) จากนั้นปล่อยกระแสไฟฟ้าไหลผ่านแท่งโลหะทองซึ่งระบบทั้งหมดอยู่ในน้ำที่ปราศจากไอออน โดยใช้ไฟฟ้ากระแสตรงผ่านขั้วโลหะทองด้วยความต่างศักย์ 70-100 โวลต์ ในอุณหภูมิห้อง แสดงในรูปที่ 2.3 จะเกิดอนุภาคนาโนทองขึ้นในสารละลาย โดยขนาดและรูปร่างจะขึ้นอยู่กับระยะห่างระหว่างขั้วไฟฟ้าทั้ง 2 และความต่างศักย์ที่ใช้ [3]



รูปที่ 2.3 แสดงระบบการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองด้วย Arc Discharge แบบกระแสตรงในน้ำที่ปราศจากไอออน

- Laser Ablation เป็นวิธีเตรียมอนุภาคนาโนทองด้วยเลเซอร์ โดยเตรียมแผ่นโลหะทองบริสุทธิ์ (99.99%) ให้มีความหนา 3 mm ขนาด 1.5x1 cm<sup>2</sup> และนำไปแช่ในน้ำที่ปราศจากไอออน 50 mL โดยให้แผ่นทองอยู่ต่ำกว่าระดับน้ำ 15 mm จากนั้นใช้เลเซอร์ฉายลงไปทีแผ่นโลหะทองในน้ำเป็นเวลา 5 นาทีในสภาวะอุณหภูมิห้อง เป็นผลทำให้เกิดอนุภาคนาโนทองกระจายตัวอยู่ใน

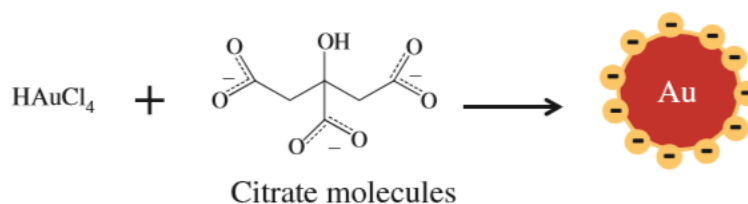
สารละลาย โดยขนาดอนุภาคจะขึ้นอยู่กับบริเวณที่ฉายแสงเลเซอร์ และการฉายแสงเลเซอร์โดยตรงไปยังบริเวณที่มีการหลอมละลาย อนุภาคนาโนทองที่ได้มีขนาด 2-8 นาโนเมตร [4]



รูปที่ 2.4 แสดงระบบในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองด้วยเลเซอร์

2.2.2 การสังเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมี เป็นวิธีการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองจากสารละลายทองโดยผ่านกระบวนการทางเคมี ดังตัวอย่าง

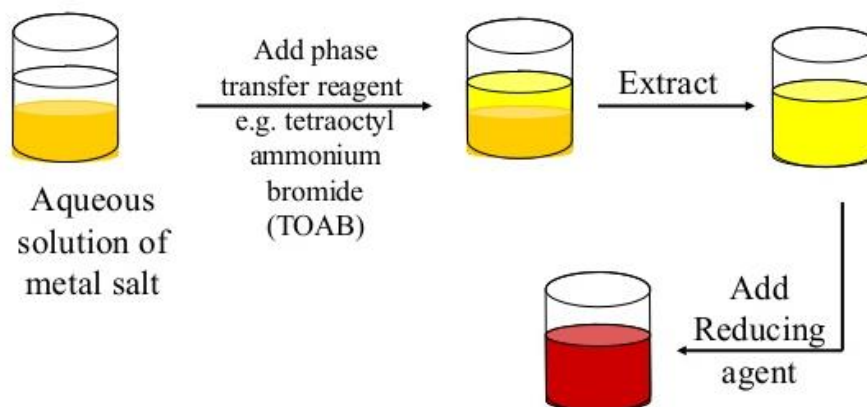
- การเคราะห์ด้วยซิเตรต (Citrate Reduction) การสังเคราะห์ด้วยวิธีนี้เป็นที่นิยมเป็นเวลานาน โดยการใช้ซิเตรตเป็นสารรีดิวซ์สารละลายกรดคลอโรอริก ( $\text{HAuCl}_4$ ) ในน้ำ ทำให้ได้อนุภาคทองที่มีขนาดอยู่ในช่วง 16-147 นาโนเมตร การควบคุมการเกิดของอนุภาคทำได้โดยการควบคุมอัตราส่วนระหว่างสารรีดิวซ์ (Reducing Agents) และสารเพิ่มความคงตัว (Stabilizing Agents) โดยสารที่ใช้เป็นสารเพิ่มความคงตัวคือ Sodium 3-Mercaptopropionate [20]



รูปที่ 2.5 แสดงกลไกการเกิดอนุภาคนาโนทอง โดยการใช้ซิเตรตเป็นสารรีดิวซ์สารละลายกรดคลอโรอริก ( $\text{HAuCl}_4$ ) [21]

- การสังเคราะห์แบบ 2 วัฏภาคและคงสภาพด้วย Thiols เป็นการสังเคราะห์อนุภาคที่นำแนวความคิดจาก Faraday's two-phase system สำหรับ Thiols เป็นสารที่จับกับทองได้ดี การสังเคราะห์ทำได้โดยการเติมสาร  $\text{AuCl}_4^-$  ลงใน Toluene โดยใช้ Tetraoctylammonium bromide

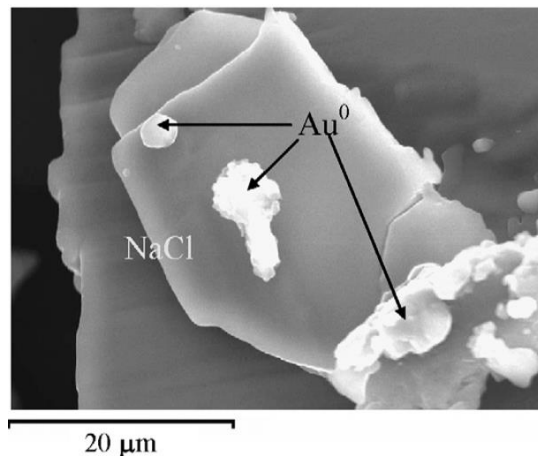
เป็น Phase-Transfer Reagent และรีดิวซ์ด้วย  $\text{NaBH}_4$  ใน Dodecanethiol การควบคุมขนาดทำได้โดยการเปลี่ยนแปลงค่าอัตราส่วนระหว่าง Thiol :  $\text{AuCl}_4^-$  ขนาดของอนุภาคที่ได้อยู่ในระดับ 2-5 นาโนเมตร จากกระบวนการดังกล่าวจึงมีการศึกษานำสารอื่นมาใช้ในการคงสภาพแทนการใช้ Thiols เช่น สารที่มีซัลเฟอร์เป็นลิแกนด์, Phosphine, Phosphine Oxide, Amine, Carboxylate Ligands, Isocyanide, Acetone และ Iodine เป็นต้น [20]



รูปที่ 2.6 แสดงแผนผังการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองด้วยวิธีการสังเคราะห์แบบ 2 วัฏภาค [22]

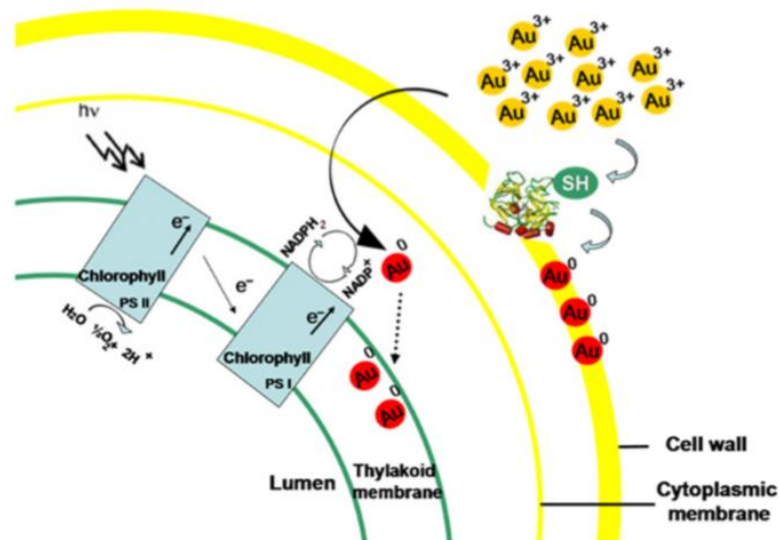
2.2.3 การสังเคราะห์ด้วยวิธีทางชีวภาพ เป็นการสังเคราะห์โดยใช้สิ่งมีชีวิตขนาดเล็กในธรรมชาติ เช่นแบคทีเรีย รา ไชยาโนแบคทีเรีย สาหร่าย และสารสกัดจากพืชชั้นสูง เป็นต้น มาสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองจากสารละลายทอง ตัวอย่างเช่น

- การสังเคราะห์ด้วยสารชีวมวล (biomass) วิธีนี้จะใช้ชีวมวลจากสาหร่ายหรือพืช มาเป็นสารในการรีดิวซ์สารละลายทอง โดยการเติมผงหรือสารสกัดจาก biomass ลงในสารละลาย  $\text{HAuCl}_4$  ทำให้เกิดการรีดิวซ์สารละลายทองกลายเป็นอนุภาคนาโนทอง จากนั้นทำการ Centrifuge จะได้อนุภาคนาโนทองอยู่ในสารละลาย วิธีนี้ได้อนุภาคนาโนทองที่มีขนาดและรูปร่างต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดและองค์ประกอบทางเคมีสารชีวมวล โดยอนุภาคที่ได้มีขนาดอยู่ในช่วง 5-100 nm [8-10]



รูปที่ 2.7 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (SEM) ของอนุภาคนาโนทองที่ได้จากการรีดิวซ์สารละลายทองด้วยสารชีวมวลจากสาหร่ายสีน้ำตาล (*Fucus vesiculosus*) [23]

- การสังเคราะห์ด้วยเซลล์ที่มีชีวิต การสังเคราะห์ด้วยวิธีนี้อาศัยการดูดซับบริเวณพื้นผิวของเซลล์สิ่งมีชีวิต และการซึมผ่านเข้าไปในเซลล์ ด้วยเซลล์ที่ยังมีชีวิต จำพวกแบคทีเรีย รา สาหร่ายขนาดเล็ก และอื่นๆ ใส่ลงในสารละลาย HAuCl<sub>4</sub> ที่มีความเข้มข้นต่ำในระดับ ppm เพื่อให้สารค่อยๆ เกิดปฏิกิริยาบนพื้นผิวของสิ่งมีชีวิตและภายในสิ่งมีชีวิต อนุภาคที่ได้จะมีขนาดอยู่ในช่วงต่ำกว่า 20 nm [24]



รูปที่ 2.8 แสดงกลไกการเกิดอนุภาคนาโนทองจากการไฮยาโนแบคทีเรีย *Synechocystis* ที่มีชีวิต [25]



ตารางที่ 2.1 แสดงข้อดีและข้อเสียของการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองด้วยวิธีต่างๆ [20]

| การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง | ข้อดี  | ข้อเสีย  |
|----------------------------|--|--|
| การสังเคราะห์ทางกายภาพ     | - สารที่ได้มีความบริสุทธิ์   | - ขั้นตอนการทำให้มีความซับซ้อน<br>- ค่าใช้จ่ายในการทำสูง<br>- ได้อนุภาคที่มีขนาดรูปร่างแตกต่างกัน อนุภาคมีขนาดใหญ่ |
| การสังเคราะห์ทางเคมี       | - อนุภาคมีลักษณะเหมือนกันและมีขนาดใกล้เคียงกันมาก<br>- สารที่ได้มีความบริสุทธิ์<br>- เหมาะกับการนำไปใช้งานทันที  | - ขั้นตอนผลิตมีความซับซ้อน<br>- ใช้สารเคมีที่เป็นอันตราย<br>- ต้องใช้สารคงสภาพ                                     |
| การสังเคราะห์ทางชีวภาพ     | - เป็นวิธีที่ง่าย ขั้นตอนการทำที่ไม่ซับซ้อน<br>- สารที่ใช้หาง่าย<br>- ไม่ใช่สารที่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม<br>- สามารถสังเคราะห์ได้หลายรูปร่างขึ้นอยู่กับสารที่ใช้<br>- ไม่ต้องใช้สารคงสภาพ<br>- ค่าใช้จ่ายน้อย | - อนุภาคที่ได้มีสารเจือปนขึ้นอยู่กับสารนำไปใช้   |

ในปัจจุบันการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองส่วนใหญ่สังเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมี ซึ่งได้อนุภาคที่มีขนาดที่ใกล้เคียงกันและสามารถควบคุมขนาดรูปร่างได้ง่าย แต่เนื่องจากใช้สารเคมีที่เป็นพิษและมีค่าใช้จ่ายสูงจึงมีผู้พัฒนาวิธีทางชีวภาพซึ่งมีค่าใช้จ่ายถูกกว่า ไม่มีความเป็นพิษ ขั้นตอนในการสังเคราะห์ง่ายกว่า [24]

ตารางที่ 2.2 แสดงการเปรียบเทียบคุณสมบัติของอนุภาคนาโนทองจากการสังเคราะห์ด้วยวิธีต่างๆ

| วิธีการสังเคราะห์ | เทคนิค/สารที่ใช้                                   | ขนาดอนุภาค (nm) | รูปร่างอนุภาค                     | การกระจายตัวของอนุภาค (nm) | อ้างอิง |
|-------------------|--|-----------------|-----------------------------------|----------------------------|---------|
| กายภาพ            | การสลายตัวด้วยความร้อน                             | 10-150          | ทรงกลม                            | -                          | [2]     |
| กายภาพ            | Arc Discharge                                      | 25              | ทรงกลม                            | 25±15                      | [3]     |
| กายภาพ            | Laser Ablation                                     | 6               | ทรงกลม                            | 6±3                        | [4]     |
| ทางเคมี           | ใช้ Citrate  | 16-147          | ทรงกลม                            | -                          | [20]    |
| ทางเคมี           | NaBH <sub>4</sub> ใน Thiols                        | 2-5             | ทรงกลม                            | 3±1                        | [20]    |
| ทางเคมี           | NaBH <sub>4</sub> ใน Amine                         | 8               | ทรงกลม                            | 8.59±1.09                  | [20]    |
| ทางชีวภาพ         | ไซยาโนแบคทีเรียที่มีชีวิต ( <i>Synechocystis</i> ) | 13              | ทรงกลม                            | 13±2 nm                    | [25]    |
| ทางชีวภาพ         | สาหร่ายสีเขียว ( <i>Prasiola crispa</i> )          | 10              | ทรงกลม                            | 10±2                       | [26]    |
| ทางชีวภาพ         | สาหร่ายสีน้ำตาล ( <i>Sargassum wightii</i> )       | 10              | ทรงกลม                            | 10±3                       | [27]    |
| ทางชีวภาพ         | สาหร่ายสีเขียว ( <i>Spirogyra submaxima</i> )      | 2-50            | ทรงกลม ทรงสามเหลี่ยม ทรงหกเหลี่ยม | -                          | [28]    |

## 2.3 ไชยาโนแบคทีเรีย (Cyanobacteria)

ไชยาโนแบคทีเรียจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับแบคทีเรีย (Bacteria) ทั้งนี้เพราะมีโครงสร้างของผนังเซลล์คล้ายคลึงกับผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบ บางชนิดมีคุณสมบัติที่สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้เช่นเดียวกับแบคทีเรียในกลุ่มวัฏจักรไนโตรเจน ดังนั้นผู้เชี่ยวชาญด้านแบคทีเรียจึงจัดให้ไชยาโนแบคทีเรียเป็นแบคทีเรียชนิดหนึ่ง เรียกว่า Cyanobacteria แต่ทางพฤกษศาสตร์ก็ยังคงจัดว่าไชยาโนแบคทีเรียเป็นสาหร่ายชนิดหนึ่ง ไชยาโนแบคทีเรียเป็นกลุ่มสาหร่ายที่มีจำนวนมากประมาณมากกว่า 150 สกุล (Genus) และในสกุลเหล่านี้มีไชยาโนแบคทีเรียอยู่ประมาณ 1500 ชนิด (Species) ส่วนใหญ่แล้วเป็นพวกที่อยู่ในน้ำจืด แต่ก็สามารถอาศัยอยู่ได้ทั้งในน้ำพุร้อน น้ำทะเล น้ำกร่อย เนื่องจากในเซลล์มีเมือก (Gelatinous Sheath) หุ้ม ทำให้ไชยาโนแบคทีเรียสามารถเก็บความชื้นไว้ในเซลล์ สามารถเป็นฉนวนความร้อนและความเย็นให้กับเซลล์ และเนื่องจากโมเลกุลของโปรตีนภายในจับตัวกันแน่นทำให้สาหร่ายมีความคงทนสูง

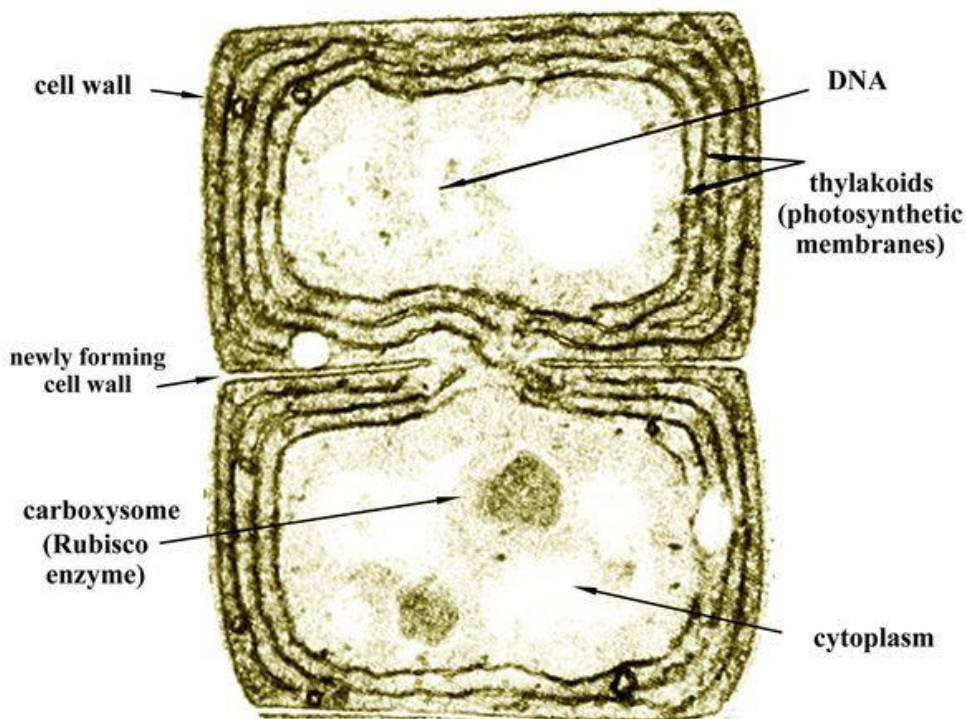
สำหรับในประเทศไทยช่วงฤดูฝนจะเป็นช่วงที่สาหร่ายชนิดนี้เติบโตอย่างหนาแน่น ที่เรียกว่า Bloom ตาม คู หนอง คลอง บึง บริเวณที่มีน้ำขังหลังจากฝนตกภายในเวลา 2-3 วัน สาเหตุเนื่องจากสาหร่ายได้รับแสงแดดเป็นเวลานานหลายชั่วโมง มีอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโต รวมทั้งมีปริมาณของไนโตรเจนและฟอสฟอรัสสูงทำให้สาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ดี [29]

ไชยาโนแบคทีเรียแบ่งออกเป็น 2 ประเภทกว้างๆ คือ

1. Non-Filamentous Form (Cocoid Form) มักจะมีรูปร่างเป็นเซลล์เดี่ยว อาจจะมีอยู่เดี่ยวๆ เซลล์เดี่ยว หรืออาจจะรวมกันเป็นกลุ่มก้อน Palmelloid (Palmelloid Colony) ก็ได้ เซลล์อาจจะมีรูปร่างต่างๆ กัน เช่น ก้อนกลม ทรงกระบอก รูปไข่ หรือเป็นแบบหัวแหลมท้ายแหลม
2. Filamentous form เป็นสาหร่ายที่มีเซลล์หลายๆเซลล์มาต่อเรียงกันเป็นสายยาว อาจจะเป็นสายตรง ปลายโค้งงอ หรือเป็นเกลียวก็ได้

โครงสร้างของเซลล์ (Cell Structure)

1. ผนังเซลล์ (Cell Wall) ไชยาโนแบคทีเรียมีผนังเซลล์ 3 ชั้น ชั้นในเป็นชั้นบาง เป็นสารจำพวกเซลลูโลส (Cellulose) ชั้นกลางเป็นสารพวกเพคตินส่วนชั้นนอกสุดเป็นสารเมือกที่เก็บน้ำเพื่อประโยชน์ในขณะที่สาหร่ายอยู่ในสถานะไม่เหมาะสม ชั้นนอกอาจจะมี Hemicellulose ปนอยู่กับเพคตินด้วยก็ได้



รูปที่ 2.9 แสดงโครงสร้างภายในเซลล์ของไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ Anabaena ที่เจริญในน้ำจืด ตามธรรมชาติ [30]

2. โปรโตพลาสซึม (Protoplasm) มีลักษณะแตกต่างจากเซลล์พืชและเซลล์ของสาหร่ายอื่นๆ แบ่งเป็น 2 ส่วนคือ Centroplasm เป็นส่วนที่ไม่มีสี มีนิวเคลียสอยู่ ซึ่งนิวเคลียสของไซยาโนแบคทีเรียไม่มีรูปร่างเป็นก้อนแต่จะลอยอยู่ใน Centroplasm ส่วนที่ 2 คือ Chromoplasm เป็นบริเวณที่มีสี ประกอบด้วย รงควัตถุต่างๆ เช่น Chlorophyll A, Carotene, Xanthophyll เป็นต้น

3. แวกคิวโอล (Vacuole) สำหรับแวกคิวโอลขนาดใหญ่จะไม่พบในไซยาโนแบคทีเรียแต่บางชนิดอาจมี Pseudovacule หรือ Gas vacuole โดยก๊าซส่วนใหญ่ที่อยู่ภายในคือไนโตรเจนหรือสารประกอบไนโตรเจน จึงทำให้เซลล์สาหร่ายสามารถลอยน้ำได้ [31]

#### 2.4 กลไกการเกิดอนุภาคนาโนทอง

กลไกการเกิดอนุภาคนาโนทองในสาหร่าย ในสาหร่ายที่มีชีวิตมีขั้นตอน 2 ในขั้นตอนแรกใช้คุณสมบัติของแรงระหว่างไอออนโลหะกับหมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิวของเซลล์จะทำให้ไอออนโลหะติดกับพื้นผิวของเซลล์ โดยไอออนทั้งหมดจะต้องผ่านผนังเซลล์ก่อนจะผ่านเข้าไปยังเยื่อหุ้มเซลล์และไซโตพลาสซึม ผนังเซลล์ประกอบไปด้วย พอลิแซ็กคาไรด์ และโปรตีน หลายชนิด ดังนั้นจึงทำให้มีพื้นที่สำหรับการจับกับไอออนโลหะมาก ด้วยลักษณะพื้นฐานของเซลล์ที่แตกต่างกันทำให้ความสามารถในการยึดเกาะโลหะแตกต่างกัน สำหรับผนังเซลล์ในไซยาโนแบคทีเรียเป็นสารจำพวก

Peptidoglycan พบว่ามีความสามารถเป็นที่ยึดเกาะของไอออน ชั้นแรกของกระบวนการเรียกว่า Passive biosorption จะไม่ขึ้นอยู่กับกระบวนการ Metabolism และดำเนินไปอย่างรวดเร็ว โดยกลไกพื้นฐานที่เกิดขึ้นคือ การสะสมตัวกันในเซลล์ (Intracellular accumulation) การตกตะกอนของสารภายนอกเซลล์ (Extracellular precipitation) การสะสม/การตกตะกอนบนผิวหน้าเซลล์ (Cell surface sorption/precipitation) โดยอาจจะเกิดขึ้นเพียงกระบวนการเดียวหรือพร้อมกันหลายกระบวนการก็ได้ ขั้นตอนนี้จะเกิดสมดุลทาง Dynamic ที่สามารถผันกลับได้ของกระบวนการการดูดซับและการคายซับ โดยโลหะที่จับบนพื้นผิวสามารถถูกแทนที่ได้ด้วยไอออนอื่นๆ หรือกรดในขั้นตอนที่ 2 Active biosorption จะเกี่ยวข้องกับกระบวนการ Metabolism โดยจะเกิดขึ้นซ้ำ [32]

## 2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองด้วยสาหร่าย

Parial D. et al. (2012) ศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองด้วยไซยาโนแบคทีเรีย (*Phormidium tenue*, *Phormidium valderianum*, *Microcoleus chthonoplastes*) โดยการสังเคราะห์ด้วยสาหร่ายที่มีชีวิต และศึกษาค่า pH ที่เหมาะสมในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง พบว่าสาหร่ายแต่ละชนิดสามารถรีดิวซ์สารละลายทองเป็นอนุภาคนาโนทองได้ ซึ่งอนุภาคมีขนาดในช่วง 15-40 nm. มีรูปร่างเป็นทรงกลม แผ่นสามเหลี่ยม แผ่นหกเหลี่ยม และพบว่าค่า pH ของสารละลาย และชนิดของสาหร่ายมีผลต่อรูปร่างและขนาดของอนุภาคนาโนทอง [5]

Parial D. et al. (2014) ศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองด้วยไซยาโนแบคทีเรีย (*Lyngbya majuscula*, *Spirulina subsalsa*) และวิธีการที่เหมาะสมในการสกัดอนุภาคนาโนทองออกจากเซลล์สาหร่าย โดยการสังเคราะห์ด้วยสาหร่ายที่มีชีวิต พบว่าอนุภาคนาโนทองเกิดขึ้นภายในเซลล์สาหร่าย *Spirulina subsalsa* อนุภาคที่ได้มีลักษณะเป็นทรงกลมและมีขนาดประมาณ 5-30 nm. ส่วนสาหร่าย *Lyngbya majuscula* อนุภาคที่ได้มีลักษณะเป็นทรงกลมและทรงหกเหลี่ยม มีขนาดประมาณ 2-25 nm. [9]

Sharma B. et al. (2012) ศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองด้วยสาหร่ายสีเขียวจากแหล่งน้ำธรรมชาติ (*Prasiola crispa*) โดยการรีดิวซ์สารละลายทองด้วยผงสาหร่ายแห้ง พบว่าอนุภาคนาโนทองมีลักษณะเป็นทรงกลมและมีขนาดอยู่ในช่วง  $10 \pm 8$  nm ซึ่งสาหร่าย *Prasiola crispa* ทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซ์และ Stabilizer ของอนุภาคนาโนทอง [26]

Lengke M.F. et al. (2006) ศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองด้วยไซยาโนแบคทีเรียกลุ่มที่เป็นเส้นใย (*Plectonema boryanum*) โดยการสังเคราะห์ด้วยสาหร่ายที่มีชีวิต พบว่าอนุภาคนาโนทองมีรูปร่างเป็นทรงกลม และมีขนาดประมาณ 10-25 nm นอกจากนี้ยังทำการศึกษาผลของอุณหภูมิในการเก็บสารละลายที่มีอนุภาคนาโนทอง โดยเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นทำให้อนุภาคมีขนาดใหญ่

ขึ้น และพบว่าอนุภาคในสารละลายจะรวมตัวกันเป็นอนุภาคของขนาดใหญ่ในระดับไมโครเมตร แต่ภายในเซลล์สาหร่ายยังคงมีอนุภาคนาโนของขนาดเท่าเดิม [33]

การเตรียมอนุภาคนาโนทองด้วยสาหร่ายมีข้อได้เปรียบกว่าสิ่งมีชีวิตอื่นคือเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีปริมาณมาก เจริญเติบโตเร็ว ไม่ก่อให้เกิดพิษ สามารถผลิตในปริมาณมากโดยมีค่าใช้จ่ายน้อยและมีความสามารถในการดูดไอออนโลหะสูงกว่าสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น [28] อีกทั้งการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองด้วย แบคทีเรีย รา ยีสต์ ต้องควบคุมเรื่องการเจือปนจากสายพันธุ์อื่นๆ ต้องทำในสภาวะปลอดเชื้อซึ่งมีความยุ่งยาก และมักจะได้อนุภาคที่มีลักษณะเป็นแผ่นสามเหลี่ยมและแท่ง ในขณะที่สาหร่ายจะได้อนุภาคทรงกลมมากกว่า [33] ดังแสดงในตารางที่ 2.3

การนำอนุภาคนาโนทองมาประยุกต์ใช้งาน สำหรับทางระบบนำส่งยา ใช้อนุภาคที่มีลักษณะเป็นทรงกลมมีขนาดอยู่ในช่วง 10-50 nm ซึ่งจากงานวิจัยพบว่าเป็นขนาดที่มีการแทรกซึมเข้าสู่ชั้นเนื้อเยื่อได้ดี ในขณะที่อนุภาคนาโนทองที่มีลักษณะเป็นแท่งกำลังเป็นที่สนใจเนื่องจากมีศักยภาพในด้านการนำมาประยุกต์ใช้กับระบบนำส่งยาและการนำส่งยีนส์ [34]

ด้าน Biosensor สามารถใช้อนุภาคนาโนทองได้หลายรูปทรงหลายขนาดขึ้นอยู่กับสารที่ต้องการตรวจสอบเช่น นาโนทองที่เป็นแผ่นหกเหลี่ยมมีความสามารถในการตรวจสอบโปรตีนซึ่งช่วยในการวินิจฉัยโรคและการรักษาโรคได้ แต่ส่วนใหญ่ใช้อนุภาคทรงกลมขนาดน้อยกว่า 60 nm [35]

สำหรับด้านการรักษาโรคมะเร็ง โดยการป้อนอนุภาคนาโนทองเข้าไปในเซลล์มะเร็งพบว่าอนุภาคที่มีผลต่อเซลล์มะเร็งคืออนุภาคขนาด 40-50 nm นอกจากนี้อนุภาคขนาดใหญ่ 80-100 nm ยังมีส่วนช่วยในการรักษาอีกด้วย เนื่องจากอนุภาคเหล่านี้ไม่เข้าไปยังเซลล์แต่จะอยู่บริเวณรอบนอกเมื่อทำการฉายแสงจะช่วยทำลายเซลล์มะเร็งได้ [36]

อุปกรณ์ Microelectronic ใช้อนุภาคนาโนทองเป็นส่วนประกอบใน Nanofluid ซึ่งใช้เป็นสารระบายความร้อนของอุปกรณ์ Microelectronic ซึ่ง Nanofluid มีองค์ประกอบเป็นน้ำและเมทานอล โดยอนุภาคนาโนทองที่ใช้จะเป็นอนุภาคทรงกลมที่มีขนาด 2-40 nm โดยอนุภาคเหล่านี้จะมีค่าการนำความร้อนสัมพัทธ์ที่ต่างกันขึ้นอยู่กับขนาดของอนุภาคและสารคงสภาพที่ใช้ [37]

สำหรับอนุภาคนาโนทองที่ได้จากการเตรียมด้วยสาหร่าย ได้มีผู้ศึกษานำมาประยุกต์ใช้ในด้านการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย หรือการรักษาโรคจากแบคทีเรียแกรมบวก [38] ใช้ในการถ่ายภาพทางการแพทย์โดยใช้ Raman Spectrometer โดยการนำอนุภาคนาโนทองมาเคลือบรอบเซลล์ หรือใส่เข้าไปแล้วใช้เทคนิครามานวัดความเข้มของอนุภาคนาโนทองออกมาเป็นภาพ [1]

ตารางที่ 2.3 แสดงสิ่งมีชีวิตที่นำมาสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง ขนาดและรูปร่างอนุภาคนาโนทองที่สังเคราะห์ได้

| สิ่งมีชีวิต   | สายพันธุ์   | ขนาดอนุภาค<br>(nm) | รูปร่างของ<br>อนุภาค              | อ้างอิง |
|---------------|---|--------------------|-----------------------------------|---------|
| Bacteria      | <i>Desulfovibrio<br/>desulphuricans</i>                     | 20-50              | สามเหลี่ยม<br>หกเหลี่ยม แท่ง      | [39]    |
| Bacteria      | <i>Rhodopseudomonas<br/>capsulate</i>                       | 10-20              | ทรงกลม<br>สามเหลี่ยม              | [40]    |
| Actinomycetes | <i>Thermospora spp.</i>                                     | 9-10               | ทรงกลม                            | [41]    |
| Actinomycetes | <i>Rhodococcus sp.</i>                                      | 5-15               | ทรงกลม                            | [42]    |
| Yeasts        | <i>Yarrowia lipolytica</i>                                  | 15                 | สามเหลี่ยม<br>หกเหลี่ยม           | [43]    |
| Algae         | <i>Prasiola crista</i>                                      | 10                 | ทรงกลม                            | [26]    |
| Algae         | <i>Sargassum wightii</i>                                    | 10                 | ทรงกลม                            | [27]    |
| Algae         | <i>Spirogyra submaximal</i>                                 | 2-50               | ทรงกลม<br>สามเหลี่ยม<br>หกเหลี่ยม | [28]    |
| Cyanobacteria | <i>Phormidium tenue,<br/>Microcoleus<br/>chthonoplastes</i> | 15-40              | ทรงกลม<br>สามเหลี่ยม              | [5]     |
| Cyanobacteria | <i>Lyngbya majuscula,<br/>Spirulina subsalsa</i>            | 5-30               | ทรงกลม                            | [9]     |
| Cyanobacteria | <i>Plectonema<br/>boryanum</i>                              | 10-25              | ทรงกลม                            | [33]    |
| Fungi         | <i>Colletotrichum<br/>species</i>                           | 20-40              | สามเหลี่ยม แท่ง                   | [44]    |
| Fungi         | <i>Pelargonium<br/>graveolens</i>                           | 20-40              | ทรงกลม<br>สามเหลี่ยม แท่ง         | [44]    |
| Fungi         | <i>Verticillium Sp.</i>                                     | 12-28              | หกเหลี่ยม                         | [45]    |

### บทที่ 3

#### วิธีการดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

##### 3.1.1 สารเคมี

- ไฮยาโนแบคทีเรียที่เจริญอยู่ในระบบน้ำหล่อเย็นแบบไหลวนเปิดจากบริษัทสยามฟริท จำกัด
- สารละลายกรดคลอโรอริก (HAuCl<sub>4</sub>) 0.5 M
- น้ำกลั่น
- อะซีโตน 90% (Acetone) บริษัท Ajex Finehem, Australia
- แอมพิซิลลิน (Ampicillin) บริษัท Katayama, Japan
- อะกาโรส (Agaros) บริษัท BIO-RAD, USA
- ผงวุ้นเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบบแข็ง (Agar powder) บริษัท HIMEDIA, India
- โซเดียมไนเตรต (Sodium Nitrate) บริษัท Sigma, USA
- โพแทสเซียมฟอสเฟต (Potassium phosphate) บริษัท Merck, USA
- แมกนีเซียมซัลเฟต (Magnesium Sulfate) บริษัท Merck, USA
- แคลเซียมคลอไรด์ (Calcium Chloride) บริษัท Merck KGaA, Germany
- โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium Carbonate) บริษัท Merck KGaA, Germany
- อีดีทีเอไดโซเดียมซอลไดไฮเดรต (EDTA disodium salt dehydrate) บริษัท Amresco, USA
- กรดซิตริก (Citric Acid) บริษัท Merck KGaA, Germany
- แอมโมเนียมไอรอน(III)ซิเตรต (Ammonium Iron(III) Citrate) บริษัท Ajex Finehem, Australia
- กรดบอริก (Boric acid) บริษัท Merck KGaA, Germany



- แมงกานีส (II) คลอไรด์ (Manganese (II) chloride) บริษัท Ajax Finechem, Australia
- ซิงค์ซัลเฟต (Zinc sulfate) บริษัท Ajax Finechem, Australia
- โคบอลต์ (II) ไนเตรต (Cobalt (II) nitrate) บริษัท Ajax Finechem, Australia
- ชุดสกัด DNA สำเร็จรูป DNeasy® Plant Mini Kit บริษัท QIAGEN , Germany

### 3.1.2 อุปกรณ์

- ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 mL, กระบอกตวง, ซ้อนตักสาร, ปีกเกอร์ขนาด 50, 100, 250 mL.
- งานเพาะเลี้ยงเชื้อแบบหลุมและแบบแผ่น, โกร่งบดยา, ขวดปรับปริมาตร
- ตะแกรงร่อนอนุภาค ขนาด 45 ไมโครเมตร
- เครื่องดูดจ่ายสารละลายปิเปต ยี่ห้อ Gilson
- มุ้งไนลอน (Nylon Net)
- หลอดฟลูออเรสเซนต์ 18w, Day light, 72 lm/w
- เครื่องเขย่า ยี่ห้อ New Brunswick™ Innova® 2300
- เครื่อง PCR ยี่ห้อ BIO-RAD รุ่น T100™ Thermal Cycler
- เครื่องชั่งน้ำหนัก ยี่ห้อ METTLER TOLEDO รุ่น ME3002
- กล้องจุลทรรศน์ ยี่ห้อ Olympus รุ่น CH 30
- เครื่องปั่นเหวี่ยง ยี่ห้อ BECKMAN COULTER รุ่น Avanti J-30I
- กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission Electron Microscope : TEM) ยี่ห้อ JEOL รุ่น JEM-2010
- เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV-VIS Spectrophotometer) ยี่ห้อ Agilent รุ่น Cary 60

### 3.2 ขั้นตอนการทดลอง

วิธีการดำเนินการทำวิจัย แบ่งเป็น 2 ขั้นตอนคือ การวิเคราะห์สายพันธุ์ของไซยาโนแบคทีเรีย และการหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการรีดิวซ์สารละลายกรดคลอโรอริกด้วยไซยาโนแบคทีเรียแบบ ผง

#### 3.2.1 การวิเคราะห์สายพันธุ์ไซยาโนแบคทีเรีย

ไซยาโนแบคทีเรียถูกนำมาจากระบบน้ำหล่อเย็นแบบไหลวนเปิดในโรงงานของบริษัทสยามฟริตจำกัด ซึ่งนำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ทำการตัดแยกสายพันธุ์ด้วยวิธี Stab-agar (Stab-agar Method) ทำโดยล้างส่วนของ filament ของไซยาโนแบคทีเรียด้วยน้ำประปาที่ไหลแรง นำชิ้นส่วนของไซยาโนแบคทีเรียมาเลี้ยงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหารวุ้น BG11 จากนั้นนำจานเพาะเชื้อมาวางภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์ (Day light, 18 w, 72 lm/w) ปล่อยให้ไซยาโนแบคทีเรียเจริญ ประมาณ 1 อาทิตย์ จะมีส่วนของไซยาโนแบคทีเรียเจริญงอกออกมาจากบริเวณที่วางไว้ ตัดชิ้นส่วนของต้นอ่อนที่งอกออกมา ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 3-5 ครั้ง นำชิ้นส่วนสาหร่ายใส่ในจานเพาะเชื้อแบบหลุม ที่มีอาหาร BG11 และสารละลาย ampicillin 50 µg/mL เพื่อกำจัดแบคทีเรีย นำไปวางภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์เป็นเวลา 2 วัน จากนั้นนำชิ้นส่วนไซยาโนแบคทีเรียในจานหลุม ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อและนำไปเลี้ยงในจานเพาะเชื้อ ปล่อยให้ไซยาโนแบคทีเรียเจริญ ประมาณ 1-2 อาทิตย์ ตัดชิ้นส่วนไซยาโนแบคทีเรียที่งอกออกไปเลี้ยงในจานเพาะเชื้อ จะได้ไซยาโนแบคทีเรียที่มีความบริสุทธิ์สูง

ทำการสกัด DNA ของไซยาโนแบคทีเรียโดยใช้ชุดสกัด DNA สำเร็จรูป DNeasy® Plant Mini Kit จากนั้นทำการเพิ่มจำนวน DNA โดยใช้เทคนิค PCR ซึ่งเลือกใช้ PCR Primers ตามวิธีของ U. NUBEL และคณะ 1997 [46] ที่ใช้สำหรับเพิ่มผลิตภัณฑ์ PCR ของไซยาโนแบคทีเรีย และสังเคราะห์ PCR Primers จากบริษัท แปซิฟิกไซเอ็นซ์ จำกัด หลังจากผ่านกระบวนการทำ PCR แล้ว นำผลิตภัณฑ์ PCR ที่ได้มาตรวจสอบความบริสุทธิ์ด้วยกระบวนการแยกทางไฟฟ้าโดยใช้เจล (Agarose Gel Electrophoresis) จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ PCR ส่งวิเคราะห์ลำดับเบส DNA

#### 3.2.2 การรีดิวซ์สารละลายกรดคลอโรอริกด้วยไซยาโนแบคทีเรีย

- การเตรียมไซยาโนแบคทีเรีย

ไซยาโนแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลองมี 2 แบบ คือที่เจริญในระบบน้ำหล่อเย็นของโรงงานและเลี้ยงด้วยเทคนิคปลอดเชื้อในห้องปฏิบัติการ สำหรับไซยาโนแบคทีเรียที่เจริญในระบบน้ำหล่อเย็นเก็บเกี่ยวโดยการวางมุ้งไนลอนเพื่อเป็นวัสดุที่สามารถให้ไซยาโนแบคทีเรียยึดเกาะได้ บริเวณที่มีการไหล

ของน้ำและมีแสงแดดส่องถึง ใช้เวลา 2 สัปดาห์ และทำการเก็บไซยาโนแบคทีเรียที่เจริญอยู่บนวัสดุยึดเกาะ แยกไซยาโนแบคทีเรียและตะกอนที่ติดมา จากนั้นนำล้างด้วยน้ำกลั่นจนน้ำไม่ขุ่นและนำมาตากแห้งในที่ร่มโดยการวางบนแผ่นอลูมิเนียมเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ส่วนไซยาโนแบคทีเรียที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการเตรียมโดย นำไซยาโนแบคทีเรียที่ผ่านการคัดแยกสายพันธุ์และทำให้ปลอดเชื้อ มาเลี้ยงในอาหารเหลว BG11 และนำไปเลี้ยงในเครื่อง plant growth chamber จากนั้นนำไซยาโนแบคทีเรียมาล้างด้วยน้ำกลั่น และนำมาตากแห้งในที่ร่มโดยการวางบนแผ่นอลูมิเนียมเป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นนำไซยาโนแบคทีเรียที่ตากแห้งเรียบร้อยแล้วมาบดเป็นผงด้วยโกร่งบดยา และนำมากรองผ่านตะแกรงร่อนที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 45  $\mu\text{m}$  และเก็บใส่ภาชนะที่ป้องกันความชื้น

- การรีดิวซ์สารละลายกรดคลอโรอริกด้วยไซยาโนแบคทีเรีย

เตรียมสารละลายกรดคลอโรอริกความเข้มข้น 0.001 M ปริมาตร 100 mL ผสมกับผงไซยาโนแบคทีเรีย จากนั้นนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 rpm. อุณหภูมิห้อง

- การแยกอนุภาคนาโนทองออกจากไซยาโนแบคทีเรีย

ทำโดยนำสารละลายหลังจากทำการทดลองแล้วมาปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 10,000 rpm อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นเทสารละลายออก จะได้อนุภาคนาโนทองอยู่ในสารละลาย

- การออกแบบการทดลอง

1 ศึกษาเวลาที่ใช้ในการเกิดอนุภาคนาโนทอง ใช้ไซยาโนแบคทีเรียจากระบบน้ำหล่อเย็นในโรงงานที่มีอายุ 3 สัปดาห์ ปริมาณ 0.30 กรัม ใช้สารละลายกรดคลอโรอริกปริมาตร 100 mL หลังจากผสมสารละลายกรดและผงไซยาโนแบคทีเรีย นำสารละลายที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสง ทุก 1 ชั่วโมง ติดต่อกันเป็นเวลา 19 ชั่วโมง

2 ศึกษาผลของปริมาณที่มีต่อการสังเคราะห์อนุภาค น้ำหนักของผงไซยาโนแบคทีเรียที่ศึกษา คือ 0.10, 0.15, 0.20, 0.25 และ 0.30 กรัม โดยใช้สารละลายกรดคลอโรอริกปริมาตร 100 mL

3 ศึกษาอายุของไซยาโนแบคทีเรียที่มีความเหมาะสมต่อการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง โดยศึกษาไซยาโนแบคทีเรียที่มีอายุ 1, 2 และ 3 สัปดาห์ ใช้ปริมาณผงไซยาโนแบคทีเรีย 0.20, 0.25 และ 0.30 กรัม ใช้สารละลายกรดคลอโรอริกปริมาตร 100 mL

4 ศึกษาผลแหล่งที่มาของไซยาโนแบคทีเรีย ระหว่างไซยาโนแบคทีเรียที่เจริญอยู่ในระบบน้ำหล่อเย็นและที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ ซึ่งเปรียบเทียบดังตารางที่ 3.1

### 3.2.3 การวิเคราะห์ผลการทดลอง

- การวิเคราะห์สายพันธุ์ไซยาโนแบคทีเรีย เปรียบเทียบ DNA ไซยาโนแบคทีเรียที่ได้กับข้อมูลในฐานข้อมูล GenBank โดยใช้โปรแกรม BLASTn
- การระบุชนิดของอนุภาคในสารละลายหลังการทดลอง โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV-VIS Spectrophotometer)
- การศึกษารูปร่างลักษณะและขนาดของอนุภาค ใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) เพื่อถ่ายภาพอนุภาค ซึ่งเตรียมตัวอย่างสำหรับถ่ายภาพโดยการหยดสารละลายลงบนแผ่น Copper Grid จากนั้นนำมาอบที่อุณหภูมิ 80 °c เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และระบุธาตุของอนุภาคที่ถ่ายมาด้วยเทคนิค EDX

ตารางที่ 3.1 แสดงอายุและปริมาณไซยาโนแบคทีเรียที่ใช้เปรียบเทียบลักษณะอนุภาคนาโนทองที่ได้ระหว่างไซยาโนแบคทีเรียจากระบบน้ำหล่อเย็นและไซยาโนแบคทีเรียที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

| อายุไซยาโนแบคทีเรีย (สัปดาห์) | ปริมาณไซยาโนแบคทีเรีย (กรัม) |
|-------------------------------|------------------------------|
| 1                             | 0.20                         |
|                               | 0.25                         |
| 2                             | 0.10                         |
|                               | 0.15                         |
|                               | 0.20                         |
|                               | 0.25                         |
|                               | 0.30                         |
| 3                             | 0.20                         |
|                               | 0.25                         |
|                               | 0.30                         |

## บทที่ 4

### ผลการวิจัยและอภิปรายผล

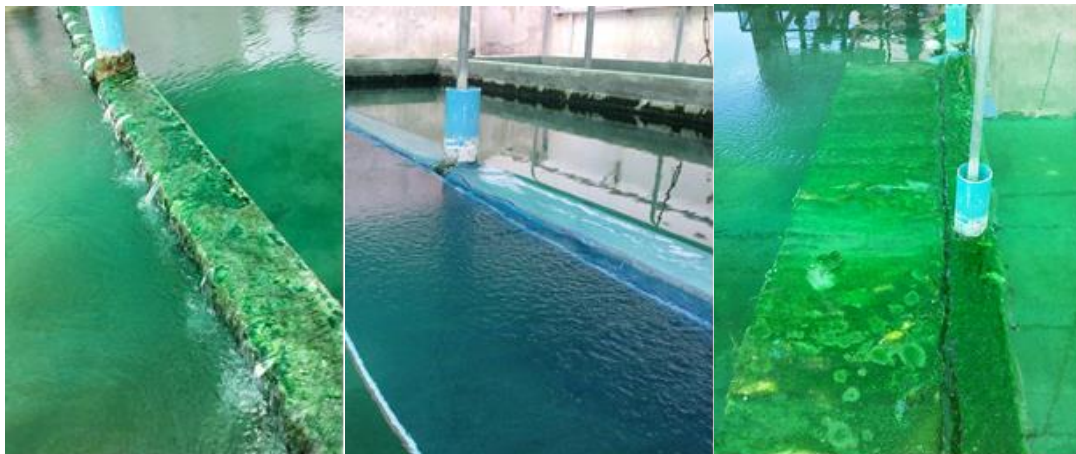
ในระบบน้ำหล่อเย็นแบบไหลวนเปิดของบริษัทสยามฟริทจำกัด พบว่ามีไฮยาโนแบคทีเรียเจริญอยู่เป็นจำนวนมากโดยเฉพาะบริเวณคูลน้ำ บริเวณที่คูลที่มีน้ำไหลผ่านและแสงแดดสามารถส่องถึง ซึ่งบริเวณดังกล่าวมีอุณหภูมิของน้ำอยู่ในช่วง 35-48 °c และเนื่องจากเป็นระบบน้ำหล่อเย็นแบบเปิด มีแร่ธาตุและสารอาหารเพียงพอต่อการเจริญเติบโต เมื่อนำน้ำในระบบน้ำหล่อเย็นมาวิเคราะห์องค์ประกอบธาตุได้ผลตามตารางที่ 4.1 โดยองค์ประกอบธาตุดังกล่าวนี้ โลหะที่ปนอยู่ในน้ำไม่เป็นพิษต่อไฮยาโนแบคทีเรีย จึงทำให้ไฮยาโนแบคทีเรียสามารถเจริญอยู่ในระบบน้ำหล่อเย็นนี้ได้ โดยไฮยาโนแบคทีเรียชนิดนี้จะพบมากในฤดูหนาวและฤดูร้อน ส่วนในฤดูฝนจะพบได้น้อย เนื่องจากในระบบน้ำหล่อเย็นมีน้ำมากเกินไป

ตารางที่ 4.1 ผลวิเคราะห์ธาตุในน้ำจากระบบน้ำหล่อเย็นของบริษัทสยามฟริท จำกัด ด้วยวิธี ICP - OES (Inductively Couple Plasma) สถาบันวิจัยและพัฒนาอัญมณีและเครื่องประดับแห่งชาติ (องค์การมหาชน) (สวอ)

| ธาตุ (element)   | ppm (mg/L) |
|------------------|------------|
| แมกนีเซียม (Mg)  | ธาตุหลัก   |
| โพแทสเซียม (K)   | ธาตุหลัก   |
| สตรอนเซียม (Sr)  | ธาตุหลัก   |
| ซิลิคอน (Si)     | ธาตุรอง    |
| แคลเซียม (Ca)    | ธาตุรอง    |
| แบเรียม (Ba)     | ธาตุรอง    |
| ไทเทเนียม (Ti)   | ธาตุรอง    |
| อะลูมิเนียม (Al) | ธาตุรอง    |

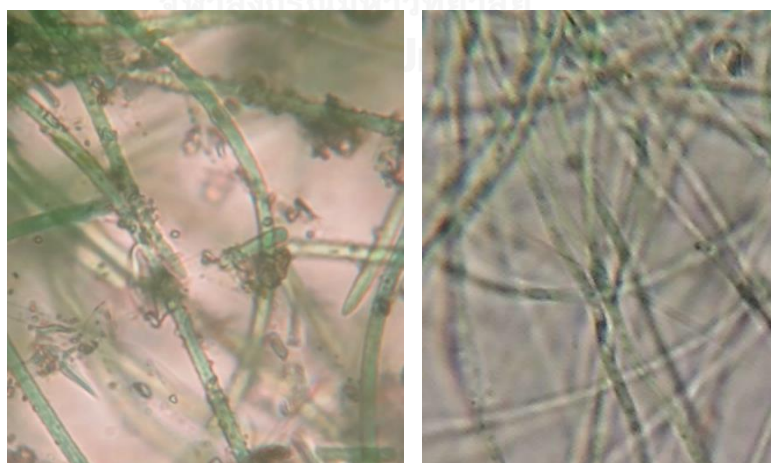
เมื่อทำการศึกษาระบบที่มีไฮยาโนแบคทีเรียเจริญอยู่พบว่า ในระบบน้ำหล่อเย็นแบบไหลวนเปิดไฮยาโนแบคทีเรียมักจะเจริญมากในบริเวณที่เป็นที่คูลที่มีน้ำไหลผ่านและได้รับแสงแดดเช่น บริเวณขอบบ่อพักน้ำ ดังรูปที่ 4.1 (ซ้าย) นอกจากนี้ยังพบบริเวณร่องทางเดินน้ำที่คูลและแสงแดดส่องถึงแต่มีปริมาณน้อยกว่า เมื่อติดตั้งตาข่ายไนลอนเพื่อเป็นวัสดุให้ไฮยาโนแบคทีเรียยึดเกาะ เจริญเติบโตได้ดีขึ้นและมีปริมาณเพิ่มขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 4.1 (กลาง) เมื่อเวลาผ่านไปพบว่าไฮยาโนแบคทีเรียสามารถ

เจริญบนตาข่ายไนล่อนที่ติดตั้งเพิ่มได้ดีและมีปริมาณไซยาโนแบคทีเรียมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับ  
 ขณะที่ยังไม่ได้ติดตั้งอุปกรณ์เพิ่มดังรูปที่ 4.1 (ขวา)



รูปที่ 4.1 ไซยาโนแบคทีเรียที่เจริญในระบบน้ำหล่อเย็น (กลาง) ตาข่ายไนล่อนที่ติดตั้งเพิ่มสำหรับเป็น  
 ที่ยึดเกาะของไซยาโนแบคทีเรีย (ขวา) ไซยาโนแบคทีเรียที่เจริญบนอุปกรณ์ที่ติดตั้งเพิ่ม

เมื่อนำไซยาโนแบคทีเรียมาส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่า มีสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นปะปนมาหลาย  
 ชนิด แต่พบว่ามีสิ่งมีชีวิตที่มีปริมาณมากที่สุดคือไซยาโนแบคทีเรียมีลักษณะเป็นเส้นสายและมีข้อปล้อง  
 เมื่อเปรียบเทียบกับไซยาโนแบคทีเรียที่เจริญในระบบน้ำหล่อเย็นก่อนติดตั้งตาข่ายไนล่อนและหลังติดตั้ง  
 ตาข่ายไนล่อนพบว่ามีลักษณะคล้ายกันคือ พบไซยาโนแบคทีเรียแบบเส้นสายเป็นส่วนใหญ่ ดังแสดง  
 ในรูปที่ 4.2



รูปที่ 4.2 (ซ้าย) ไซยาโนแบคทีเรียที่เจริญในระบบน้ำหล่อเย็นก่อนติดตั้งตาข่ายไนล่อนภายใต้กล้อง  
 จุลทรรศน์ กำลังขยาย 1000 เท่า (ขวา) ไซยาโนแบคทีเรียที่เจริญบนตาข่ายไนล่อนใน  
 ระบบน้ำหล่อเย็นภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า

จากการศึกษาทบทวนงานวิจัยพบว่า ไชยาโนแบคทีเรียยังมีความสามารถรีดิวซ์สารละลายทองให้กลายเป็นอนุภาคนาโนทองได้ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงนำไชยาโนแบคทีเรียที่เจริญในระบบน้ำหล่อเย็นนี้มาศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองโดยนำผงไชยาโนแบคทีเรียปริมาณต่างๆ ผสมลงในสารละลายกรดคลอโรอริก วิเคราะห์ลักษณะรูปร่างอนุภาคและวิเคราะห์สายพันธุ์ของไชยาโนแบคทีเรีย

#### 4.1 การวิเคราะห์สายพันธุ์ไชยาโนแบคทีเรีย

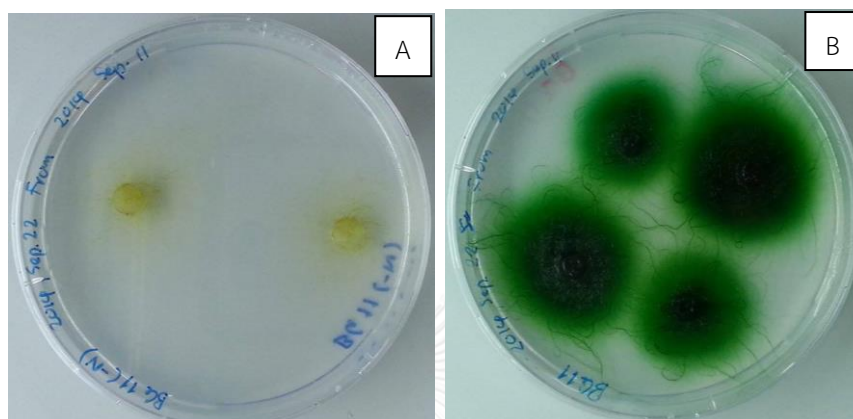
นำไชยาโนแบคทีเรียที่เจริญอยู่ในระบบน้ำหล่อเย็นของโรงงานมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการโดยการทำให้ปลอดเชื้อ คัดแยกสายพันธุ์ให้เหลือเพียงสายพันธุ์หลัก จากนั้นจะนำมาสกัด DNA เพิ่มปริมาณแถบ DNA ที่ต้องการด้วยเทคนิค PCR นำผลิตภัณฑ์ PCR ที่ได้มาตรวจสอบความบริสุทธิ์ด้วยกระบวนการแยกทางไฟฟ้าโดยใช้เจล (Agarose Gel Electrophoresis) จากรูปที่ 4.3 พบว่าแถบขวา (ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำ PCR) มีแถบ DNA ขึ้นเพียงแถบเดียว แสดงว่าผลิตภัณฑ์ PCR ที่ได้มีความบริสุทธิ์สูง จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ PCR ส่งวิเคราะห์หาลำดับเบส DNA ที่บริษัท แปซิฟิกโซเอ็นซ์ จำกัด เมื่อได้ลำดับเบสของ DNA แล้วนำไปเปรียบเทียบกับข้อมูลในฐานข้อมูล GenBank โดยใช้โปรแกรม BLASTn พบว่าผลิตภัณฑ์ PCR ตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์มีผลคล้ายคลึงกับยีนส์ 16S rRNA ของ *Microcoleus chthonoplastes* และ *Oscillatoria tenuis* ซึ่งเป็นไชยาโนแบคทีเรียในกลุ่มที่มีเส้นสาย



รูปที่ 4.3 แสดงแถบผลิตภัณฑ์ PCR แถบซ้ายคือ มาร์คเกอร์ แถบกลางคือ ผลิตภัณฑ์ PCR โดยทำการ Electrophoresis ด้วย 1.2% Agarose

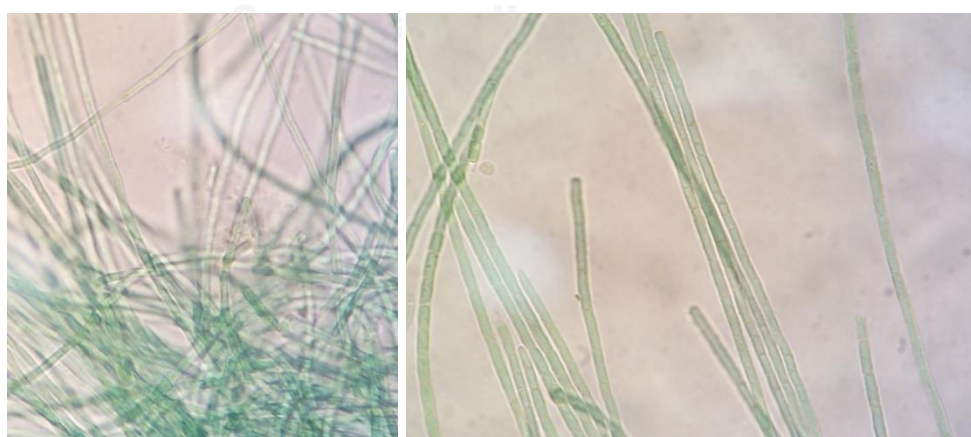
เมื่อทดลองคุณลักษณะการตรึงไนโตรเจน โดยนำไชยาโนแบคทีเรียมาเลี้ยงในอาหารแข็งบนจานเพาะเลี้ยง พบว่าไม่สามารถเจริญในอาหารที่ไม่มีไนโตรเจนได้ ซึ่งจากงานวิจัยของ G.E. Sroga และคณะ (1997) พบว่า *Microcoleus chthonoplastes* ไม่สามารถตรึงไนโตรเจนในที่ที่มีอากาศ

น้อยได้ คุณสมบัตินี้เป็นลักษณะของไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ *Microcoleus* ในขณะที่ *Oscillatoria tenuis* สามารถตรึงไนโตรเจนในอากาศได้ รูปที่ 4.4 (A) คือไซยาโนแบคทีเรียที่เจริญในอาหารแข็งที่ไม่มีไนโตรเจนซึ่งไซยาโนแบคทีเรียชนิดนี้ไม่สามารถเจริญได้ ในขณะที่รูปที่ 4.4 (B) เป็นอาหารแข็งที่มีไนโตรเจนพบว่าไซยาโนแบคทีเรียชนิดนี้สามารถเจริญได้



รูปที่ 4.4 ไซยาโนแบคทีเรียที่เจริญภายในอาหารแข็ง BG11 (A) อาหารแข็ง BG11 ที่ไม่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ (B) อาหารแข็ง BG11 ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ

จากการศึกษาทางสัณฐานวิทยา (Morphology) ประกอบกับผลของการทำการเทียบลำดับเบสของ 16S rRNA กับฐานข้อมูล จึงเป็นที่ยืนยันว่าไซยาโนแบคทีเรียชนิดนี้ใกล้เคียงกับสายพันธุ์ *Microcoleus chthonoplastes* ซึ่งมีค่า sequence identity 97% และมี Accession Number คือ KJ801561.1 เมื่อศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ได้ภาพตามรูปที่ 4.5



รูปที่ 4.5 รูปไซยาโนแบคทีเรียภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่มีกำลังขยาย 10x100 เท่า

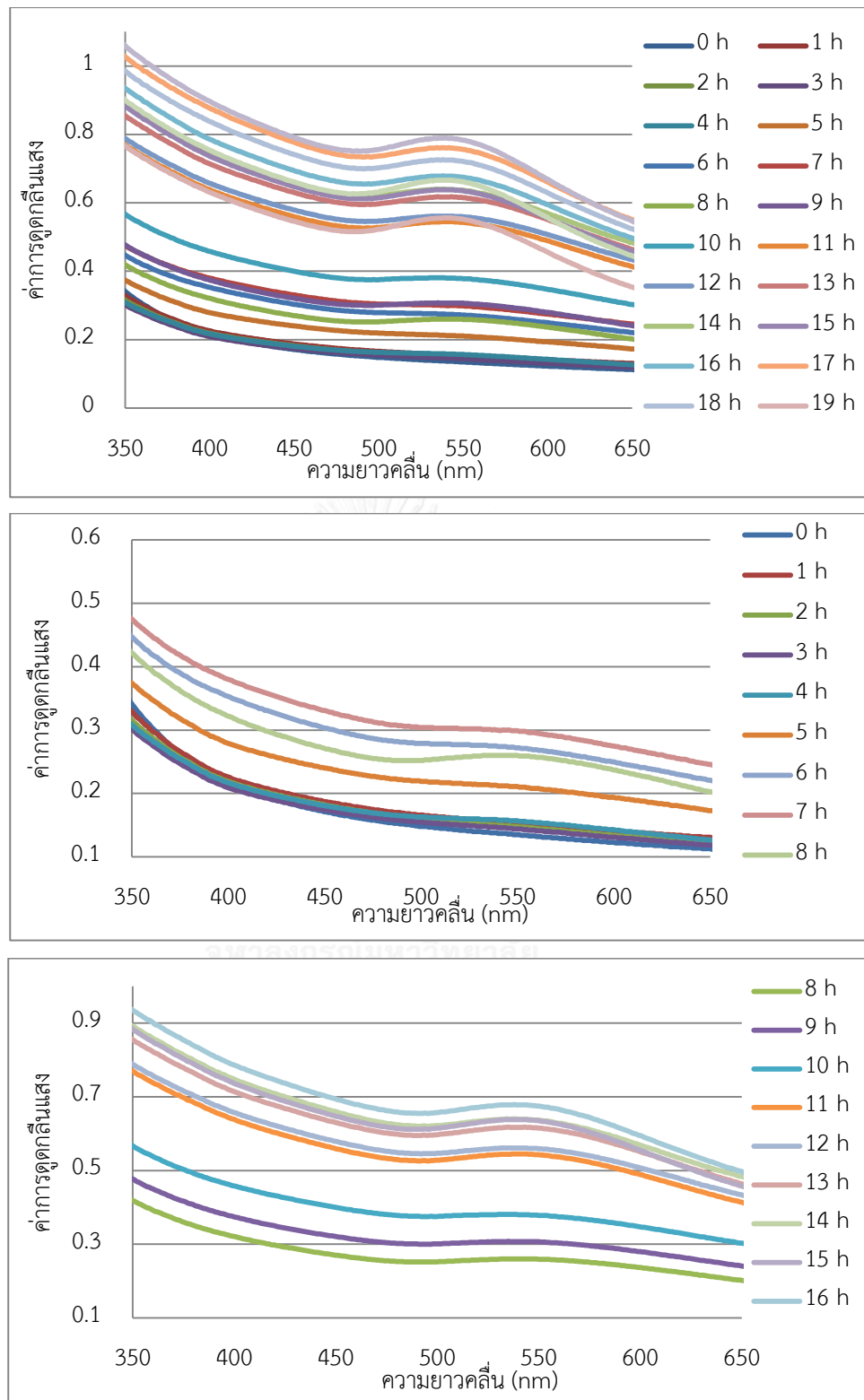


## 4.2 การศึกษาการเวลาการเกิดอนุภาคนาโนทอง

การศึกษาเวลาในการเกิดอนุภาคนาโนทอง โดยการนำผงไซยาโนแบคทีเรียที่เจริญในระบบน้ำหล่อเย็นในโรงงานอายุ 3 สัปดาห์ ปริมาณ 0.30 กรัม มารีดิวซ์สารละลายกรดคลอโรอริกความเข้มข้น 0.001 M ปริมาตร 100 mL และนำสารละลายหลังการทดลองมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่เวลาต่างๆ วัดทุก 1 ชั่วโมง

โดยเริ่มวัดตั้งแต่เริ่มการทดลองจนถึง 19 ชั่วโมงหลังการทดลอง แสดงในรูปที่ 4.5 ซึ่งจากรูปที่ 4.5 (บน) ในช่วงเวลา 0-4 ชั่วโมง พบว่าค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ มีค่าใกล้เคียงกัน กราฟค่าการดูดกลืนแสงมีลักษณะเหมือนกัน เกิดการทับซ้อนกัน ซึ่งกราฟที่เกิดขึ้นนี้คือค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายทองและผงไซยาโนแบคทีเรีย เมื่อถึงชั่วโมงที่ 5-7 ค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นต่างๆ มีค่าสูงขึ้น แตกต่างกับชั่วโมงที่ 0-4 อย่างชัดเจน จากลักษณะกราฟสามารถอธิบายได้ว่าสารที่อยู่ภายในสารละลายเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงจึงทำให้ค่าการดูดกลืนแสงเปลี่ยนไป ชั่วโมงที่ 6 และ 7 กราฟของค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 520-550 nm. เริ่มมีความชันน้อยลงและมีลักษณะคล้ายเส้นตรง เมื่อถึงชั่วโมงที่ 8 ลักษณะของกราฟค่าการดูดกลืนแสงเปลี่ยนไป สังเกตเห็นยอดพีคในกราฟโดยยอดพีคนี้คือพีคของ Surface plasmon resonance (SPR) เกิดขึ้นที่ความยาวคลื่นแสงในช่วง 531-547 nm. แสดงให้เห็นว่ามีอนุภาคนาโนทองเกิดขึ้นในสารละลาย แสดงให้เห็นในรูปที่ 4.6 (กลาง) เมื่อเวลาผ่านไปตั้งแต่ชั่วโมงที่ 9-16 ค่าการดูดกลืนแสงมีค่าเพิ่มขึ้น

ค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นเกิดจากปริมาณของอนุภาคนาโนทองในสารละลายเพิ่มขึ้นทำให้ค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้น จนถึงชั่วโมงที่ 16-19 ค่าการดูดกลืนแสงในแต่ละชั่วโมงมีค่าแตกต่างกันเล็กน้อยและกราฟเริ่มคงที่ ดังในรูปที่ 4.6 (ล่าง) จากผลการศึกษาเวลาในการเกิดอนุภาคนาโนทองจากการใช้ไซยาโนแบคทีเรียที่เจริญอยู่ในระบบน้ำหล่อเย็นพบว่ามีความสอดคล้องกับผลการทดลองของ Amrita Mishra และคณะ 2012 ที่ทำการทดลองศึกษาเวลาในการเกิดอนุภาคนาโนทองโดยใช้ราเป็นตัวรีดิวซ์ คือที่เวลาเริ่มต้นกราฟการดูดกลืนแสง ค่าการดูดกลืนแสงจะค่อยๆ ลดลงเมื่อความยาวคลื่นเพิ่มขึ้น เมื่อเวลาผ่านไป กราฟจะเริ่มปรากฏพีค SPR และค่าการดูดกลืนแสงจะค่อยๆ เพิ่มขึ้น จนถึงเวลาหนึ่งกราฟค่าการดูดกลืนแสงจะเริ่มคงที่และเกิดการทับซ้อนกัน



รูปที่ 4.6 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย (ไซยาโนแบคทีเรียจากระบบน้ำหล่อเย็นจากโรงงานปริมาณ 30 กรัม อายุ 3 สัปดาห์) ที่เวลาต่างๆ (บน) เวลา 0 – 21 ชั่วโมง (กลาง) 0 - 8 ชั่วโมง (ล่าง) 8-16 ชั่วโมง

เนื่องจากพีคของค่าการดูดกลืนแสงขึ้นอยู่กับขนาดและรูปร่างของอนุภาคนาโนทอง ซึ่งขนาดและรูปร่างอนุภาคนาโนทองขึ้นอยู่กับชนิดของสารที่นำมารีดิวซ์ ดังนั้นการนำไฮยาโนแบคทีเรีย ราสาหร่าย หรือสารสกัดจากพืชต่างๆ มารีดิวซ์สารละลายทองจะได้พีคค่าการดูดกลืนแสงมีค่าแตกต่างกัน [47] จากการทดลองนี้ทำให้ทราบว่าเมื่อใช้ไฮยาโนแบคทีเรียจากระบบน้ำเลี้ยงรีดิวซ์สารละลายทอง อนุภาคนาโนทองจะเกิดขึ้น 8 ชั่วโมง ปริมาณอนุภาคนาโนทองจะเริ่มคงที่ที่เวลา 16 ชั่วโมง และพีคของค่าการดูดกลืนแสงคือ 538 nm.

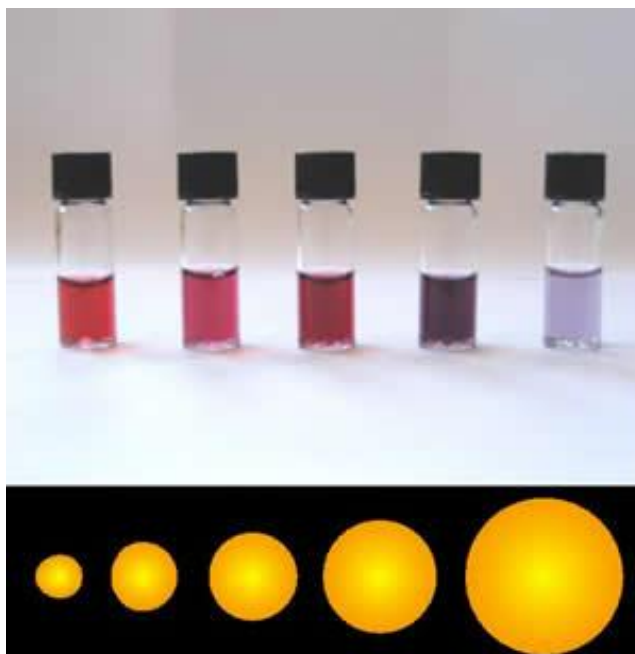
#### 4.3 การศึกษาผลของปริมาณของไฮยาโนแบคทีเรียที่มีต่อการสังเคราะห์อนุภาคทอง

การทดลองนี้ศึกษาปริมาณของผงไฮยาโนแบคทีเรียในการรีดิวซ์สารละลายกรดคลอโรอริก ความเข้มข้น 0.001 M ปริมาตร 100 mL ใช้ความเร็วในการเขย่า 200 rpm อุณหภูมิห้อง และเวลาเท่ากัน โดยผงไฮยาโนแบคทีเรียนำมาจากไฮยาโนแบคทีเรียที่เจริญในระบบน้ำหล่อเย็นอายุ 2 สัปดาห์ ปริมาณที่ใช้คือ 0.10, 0.15, 0.20, 0.25, 0.30 กรัม หลังจากนั้นเก็บสารละลายแต่ละตัวอย่างมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer และ TEM เพื่อศึกษาลักษณะรูปร่างที่แตกต่างของอนุภาคนาโนทองที่สังเคราะห์ได้

จากผลการทดลองพบว่า สีของสารละลายอนุภาคนาโนทองที่สังเคราะห์ได้แตกต่างกันโดยมีสีดังนี้คือเหลืองอ่อน สีชมพูอ่อน สีชมพูเข้ม สีส้มเงินอ่อนและสีส้มเงินเข้ม เรียงตามลำดับปริมาณผงไฮยาโนแบคทีเรียที่ใช้ในการสังเคราะห์จากน้อยไปมากซึ่งแสดงในรูปที่ 4.7 จากการศึกษาสีของอนุภาคนาโนทองพบว่า สีของอนุภาคนาโนทองขึ้นอยู่กับขนาดและรูปร่างของอนุภาค ซึ่งอนุภาคนาโนทองที่เป็นทรงกลมขนาดเล็กที่อนุภาคกระจายตัวกัน (monodisperse) สารละลายจะมีสีแดง เมื่ออนุภาคมีขนาดใหญ่ขึ้น จะมีสีโทนม่วงมากขึ้นและเมื่ออนุภาคเกิดการรวมเป็นกลุ่มก้อนหรืออนุภาคมีขนาดใหญ่ สีของสารละลายจะมีสีน้ำตาลดังแสดงในรูปที่ 4.8 [48]

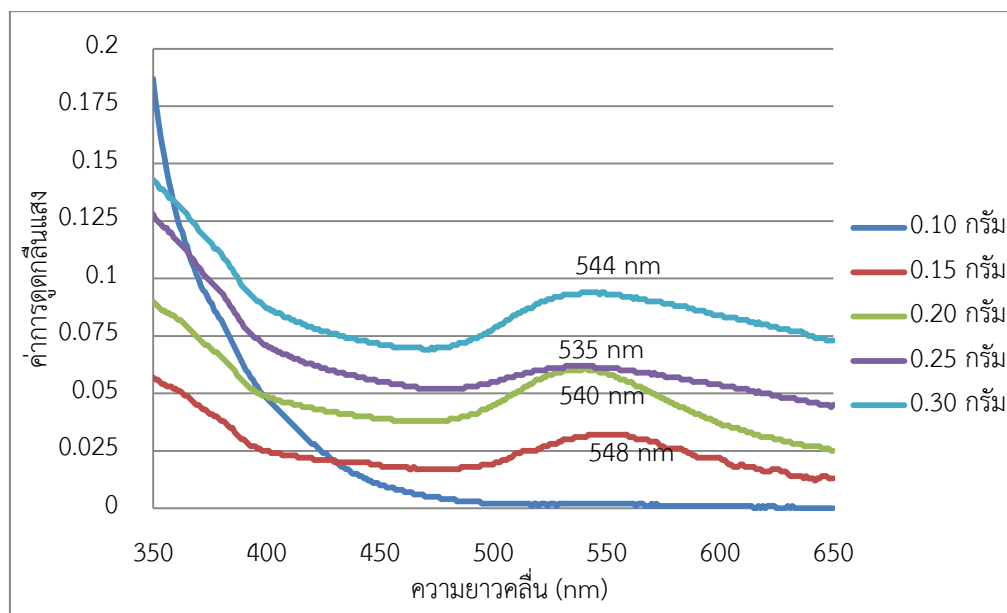


รูปที่ 4.7 สารละลายอนุภาคนาโนทองที่สังเคราะห์ด้วยไฮยาโนแบคทีเรียจากระบบน้ำหล่อเย็นในโรงงานที่มีอายุ 2 สัปดาห์เป็นตัวรีดิวซ์ ด้วยปริมาณ 0.10, 0.15, 0.20, 0.25, 0.30 กรัม (จากขวดซ้ายมาขวาตามลำดับ)



รูปที่ 4.8 แสดงสีของสารละลายอนุภาคนาโนทองและขนาดของอนุภาค [48]

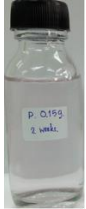
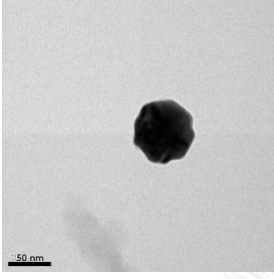
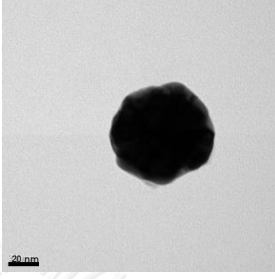
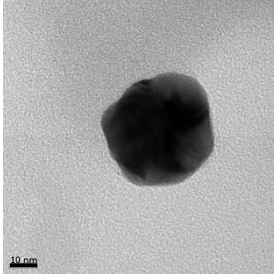
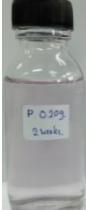
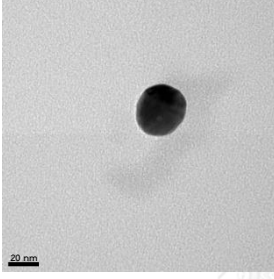
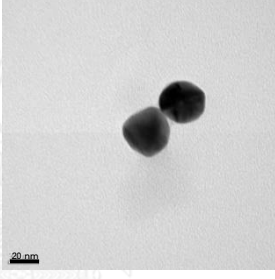
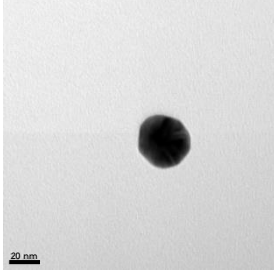

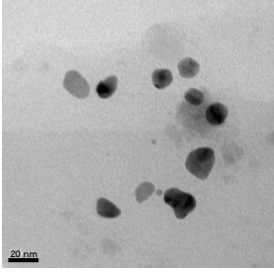
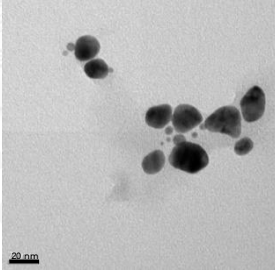
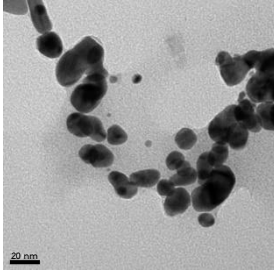

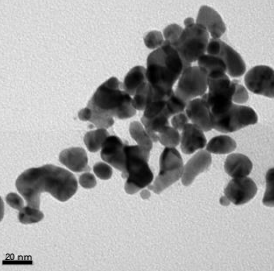
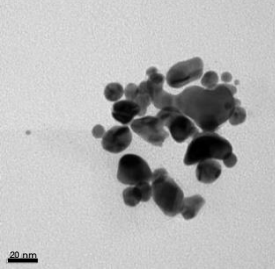
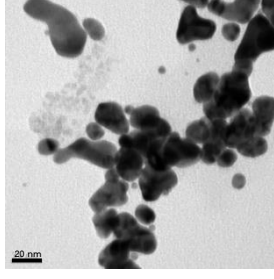
เมื่อนำสารละลายมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer พบว่ากราฟที่ได้มีลักษณะแตกต่างกัน โดยพบว่าปริมาณผงไซยาโนแบคทีเรีย 0.10 กรัมไม่มีพีก SPR เกิดขึ้น แสดงให้เห็นว่าไม่มีอนุภาคนาโนทองในสารละลาย ในขณะที่ผงไซยาโนแบคทีเรียปริมาณอื่นๆเกิดพีก SPR ขึ้นในกราฟ แต่มีค่าความยาวคลื่นที่เกิดพีก SPR แตกต่างกัน นอกจากนี้ลักษณะของกราฟการดูดกลืนแสงก็มีลักษณะต่างกันคือ ปริมาณผงไซยาโนแบคทีเรีย 0.25 และ 0.30 กรัม กราฟจะมีลักษณะกว้างกว่าปริมาณผงไซยาโนแบคทีเรีย 0.15 และ 0.20 กรัม ดังแสดงให้เห็นในรูปที่ 4.9 จากผลดังกล่าวสามารถอธิบายได้ดังนี้คือ โดยปกติกราฟค่าการดูดกลืนแสงสำหรับอนุภาคนาโนทองที่มีขนาดและรูปร่างใกล้เคียงกันพีกที่เกิดขึ้นจะพอมและมียอดพีกชัดเจน ส่วนอนุภาคนาโนทองที่มีขนาดและรูปร่างแตกต่างกันพีกที่เกิดขึ้นตัวพีกจะกว้างเนื่องจากอนุภาคแต่ละขนาดจะมีพีก SPR จำเพาะเมื่ออนุภาคหลายขนาดมารวมกันจึงทำให้พีกเกิดการซ้อนทับกัน พีกรวมที่ได้จึงมีความกว้าง [49] ดังนั้นเมื่อพิจารณาลักษณะพีกที่เกิดขึ้นพบว่า ปริมาณผงไซยาโนแบคทีเรีย 0.25 และ 0.30 กรัม อนุภาคนาโนทองที่ได้จะมีขนาดที่แตกต่างกันมากกว่าอนุภาคนาโนทองที่ใช้ผงไซยาโนแบคทีเรีย 0.15 และ 0.20 กรัม เนื่องจากพีกมีความกว้างมากกว่า



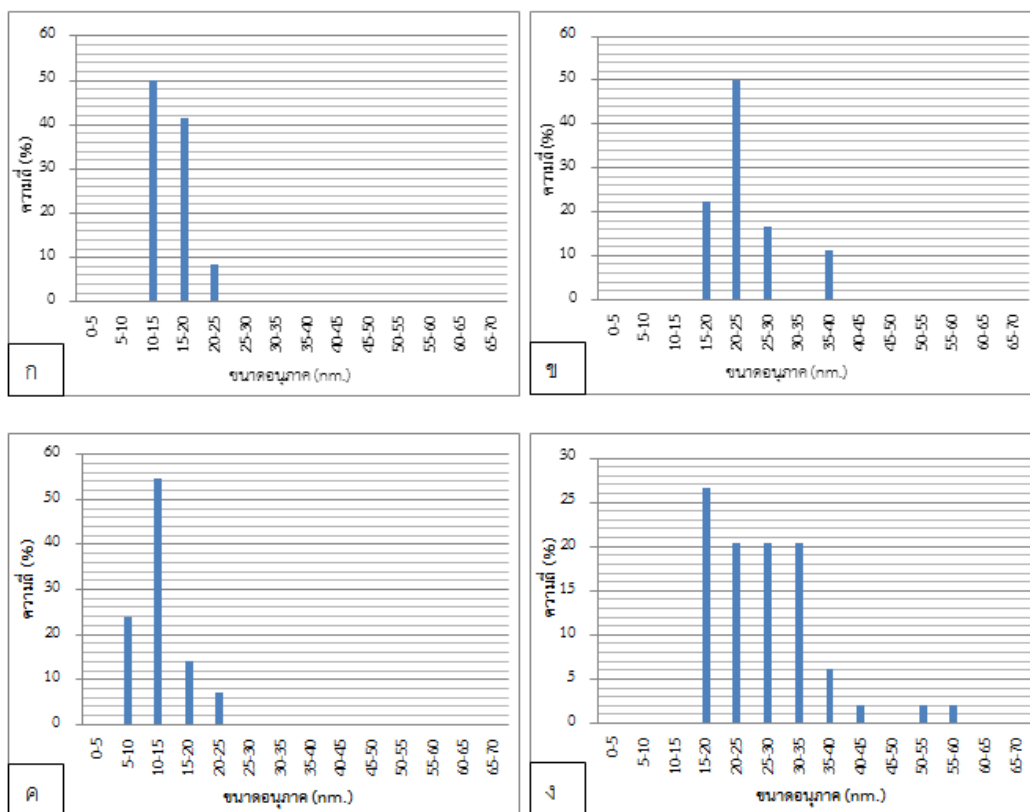
รูปที่ 4.9 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆของสารละลายนาโนทองที่รีดิวซ์ด้วยไฮยาโนแบคทีเรียที่เจริญในระบบน้ำหล่อเย็นในโรงงานด้วยปริมาณต่างๆ

เมื่อนำสารละลายมาส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน (TEM) พบว่าอนุภาคที่ได้มีรูปร่าง ขนาดแตกต่างกันดังตารางที่ 4.2 เมื่อปริมาณผงไฮยาโนแบคทีเรียที่ใช้เป็นตัวรีดิวซ์สารละลายทองเพิ่มมากขึ้นมีแนวโน้มทำให้อนุภาคนาโนทองที่ได้มีขนาดเล็กดังแสดงในตารางที่ 4.3 เนื่องมาจากในกระบวนการเกิดอนุภาคนาโนทอง ไอออนทอง ( $\text{Au}^{3+}$ ) ในสารละลายจะสัมผัสกับสารภายในผงไฮยาโนแบคทีเรียเกิดการถ่ายโอนประจุกลายเป็น  $\text{Au}^0$  และตกตะกอนเป็นของแข็งสะสมเป็นก้อนอนุภาคขึ้นที่บริเวณดังกล่าว แต่เนื่องจากอนุภาคทองที่พบมีขนาดอยู่ในช่วงนาโนเมตร (1-100 nm.) ดังนั้นจึงมีสารบางชนิดที่อยู่ในไฮยาโนแบคทีเรียเป็นสารคงสภาพ ทำหน้าที่ห่อหุ้มรอบอนุภาคนาโนทองไม่ให้อนุภาคทองมารวมกันกลายเป็นอนุภาคขนาดใหญ่ได้ [25] ดังนั้นเมื่อปริมาณผงไฮยาโนแบคทีเรียเพิ่มขึ้นจะทำให้ปริมาณสารที่สามารถรีดิวซ์ไอออนทองในสารละลายและสารคงสภาพเพิ่มขึ้น อนุภาคทองที่ได้จึงมีปริมาณมากขึ้นและมีขนาดเล็กลง

ตารางที่ 4.2 รูปจาก TEM แสดงลักษณะอนุภาคนาโนทองที่ได้จากการรีดิวซ์สารละลายทองด้วยไซยาโนแบคทีเรียจากระบบน้ำหล่อเย็นในโรงงานที่มีอายุ 2 สัปดาห์ ด้วยปริมาณต่างๆ

| ปริมาณผง<br>ไซยาโน<br>แบคทีเรีย  | รูปอนุภาคนาโนทองจากกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน (TEM)                                  |  |   |
|--|---|--|---|
| 0.15 กรัม<br>   |    |    |    |
| 0.20 กรัม<br>  |   |   |   |
| 0.25 กรัม<br> |  |  |  |
| 0.30 กรัม<br> |  |  |  |

เมื่อทำการวิเคราะห์ชนิดธาตุของอนุภาคโลหะที่พบจากกล้อง TEM ด้วยเทคนิค EDX พบว่ากราฟที่ได้มีพีคเกิดขึ้นที่ค่าพลังงานต่างๆ ดังนี้ พีคที่สูงที่สุดคือ 2.1 keV และจะมีพีคต่างๆที่ 1.8, 8.6, 9.7, 10.4, 11.6 และ 13.6 keV ซึ่งเป็นค่าพีคเฉพาะของโลหะทองแดงแสดงในรูปที่ 4.11 ส่วนพีคธาตุทองแดงเกิดจากแผ่นกริดทองแดงที่ใช้เตรียมตัวอย่างในการวิเคราะห์ด้วย TEM

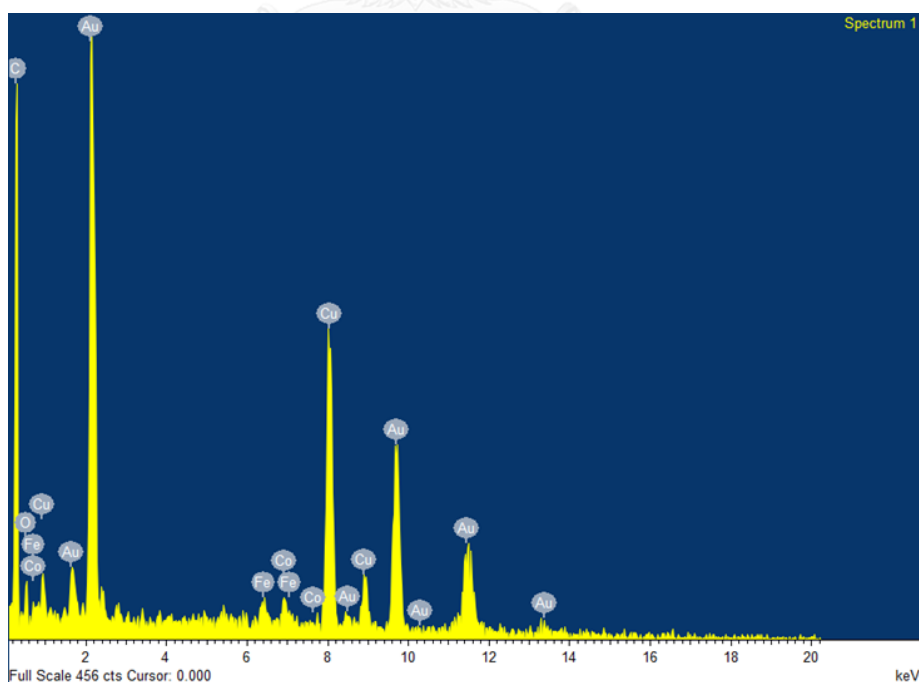


รูปที่ 4.10 แสดงแผนภูมิแท่งการกระจายตัวของขนาดอนุภาคนาโนทองที่สังเคราะห์ด้วยไซยาโนแบคทีเรียจากระบบน้ำหล่อเย็นอายุ 2 สัปดาห์ วัดขนาดอนุภาคด้วยโปรแกรม SemAfore 5.21 จากรูป TEM (ก) อนุภาคทรงกลม จากผงไซยาโนแบคทีเรียปริมาณ 0.25 กรัม (ข) อนุภาคไม่มีรูปทรง จากผงไซยาโนแบคทีเรียปริมาณ 0.25 กรัม (ค) อนุภาคทรงกลม จากผงไซยาโนแบคทีเรียปริมาณ 0.30 กรัม (ง) อนุภาคไม่มีรูปทรง จากผงไซยาโนแบคทีเรียปริมาณ 0.30 กรัม

ตารางที่ 4.3 ตารางแสดงลักษณะรูปร่างและขนาดของอนุภาคนาโนทอง ที่ได้จากการรีดิวซ์สารละลายด้วยผงไซยาโนแบคทีเรียที่เจริญในระบบน้ำหล่อเย็นอายุ 2 สัปดาห์ ในปริมาณต่าง ซึ่งวิเคราะห์ลักษณะรูปร่างอนุภาคจากรูป TEM และวิเคราะห์ขนาดอนุภาคด้วยโปรแกรม SemAfore 5.21 จากรูป TEM

| ปริมาณผงไซยาโนแบคทีเรีย (กรัม) | ลักษณะรูปร่างอนุภาค | ขนาดอนุภาค (nm) |                   |            |
|--------------------------------|---------------------|-----------------|-------------------|------------|
|                                |                     | ขนาดที่พบ       | ขนาดที่พบส่วนใหญ่ | ขนาดเฉลี่ย |
| 0.10                           | -                   | -               | -                 | -          |
| 0.15                           | ทรงกลม              | 43.3-76.1       | 65-70             | 63.3       |
| 0.20                           | ทรงกลม              | 31.5-37.2       | 30-35             | 34.02      |
| 0.25                           | ทรงกลม ทรงรี        | 10.6-20.6       | 10-15             | 15.38      |
|                                | ไม่เป็นรูปทรง*      | 16.7-37.4       | 20-25             | 23.63      |
| 0.30                           | ทรงกลม ทรงรี        | 5.99-22.2       | 10-15             | 12.78      |
|                                | ไม่เป็นรูปทรง*      | 16.2-59.4       | 15-20             | 26.96      |

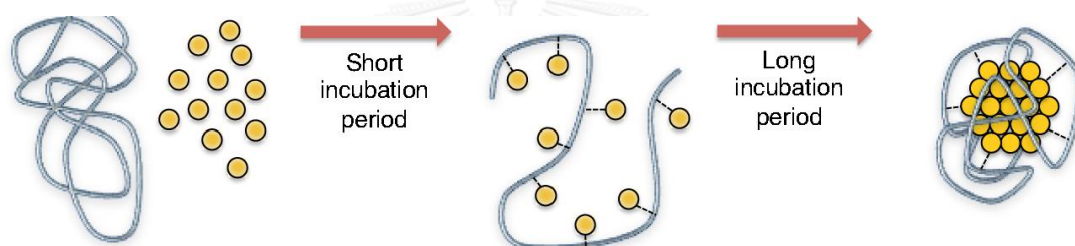
หมายเหตุ \* บอกรูปร่างด้วยการวัดตามความยาว



รูปที่ 4. 11 กราฟแสดงผลการวิเคราะห์ธาตุของอนุภาคด้วยเทคนิค EDX จากตัวอย่างที่ใช้ไซยาโนแบคทีเรียจากระบบน้ำหล่อเย็นในโรงงาน



จากผล TEM พบว่า เมื่อใช้ผงไซยาโนแบคทีเรียปริมาณน้อย อนุภาคจะมีขนาดใหญ่ และมีจำนวนน้อย เมื่อเพิ่มปริมาณผงไซยาโนแบคทีเรียมากขึ้น ทำให้อนุภาคทรงกลมที่ได้มีขนาดเล็กลงอย่างเห็นได้ชัด ทั้งนี้สาเหตุอาจเนื่องมาจากปริมาณของสารชีวโมเลกุลที่คาดว่าทำหน้าที่เป็นตัวริ้วตัวเป็นตัวที่ทำให้เกิดนิวคลีโอ (nuclei) ถ้ามีปริมาณสารชีวโมเลกุลน้อยจะทำให้เกิดนิวคลีโอในน้อยจึงทำให้อนุภาคที่พบจึงมีปริมาณน้อย เมื่อเพิ่มปริมาณผงไซยาโนแบคทีเรียทำให้สารชีวโมเลกุลที่ริ้วตัวสารละลายทองมีปริมาณมากขึ้น อาจทำให้ในระบบเกิดนิวคลีโอมากขึ้น อนุภาคนาโนทองในสารละลายจึงมีปริมาณมากขึ้น [50] นอกจากนี้ขนาดของอนุภาคที่แตกต่างกันอาจเกิดมาจากปริมาณสารชีวโมเลกุล เนื่องจากเมื่อเกิดอนุภาคนาโนทอง สารชีวโมเลกุลเหล่านี้คาดว่าทำหน้าที่เป็นสารคงสภาพ ซึ่งจะบดบังพื้นผิวของอนุภาคนาโนทองโดยรอบป้องกันไม่ให้เกิดการสะสมของอนุภาคซึ่งทำให้อนุภาคมีขนาดใหญ่ขึ้น ซึ่งกระบวนการเกิดอนุภาคนาโนทองแสดงดังรูปที่ 4.12 ดังนั้นเมื่อเพิ่มปริมาณผงไซยาโนแบคทีเรียจึงทำให้จึงทำให้มีสารห่อหุ้มมากขึ้นอนุภาคจึงมีขนาดเล็ก [51]



รูปที่ 4. 12 แสดงกระบวนการในการเกิดอนุภาคนาโนทองที่ใช้สารชีวโมเลกุลเป็นตัวริ้วตัว [51]

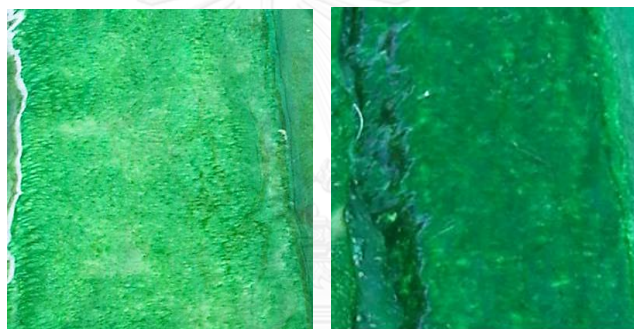
ส่วนอนุภาคที่มีลักษณะแบบไม่มีรูปทรง รูปทรงบิดเบี้ยวที่ที่เกิดขึ้นในกรณีที่ใช้ผงไซยาโนแบคทีเรีย 0.25 และ 0.30 กรัม นั้น จากงานวิจัยของ J. Hu และคณะ 2007 ที่ได้ศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองโดยใช้ D-glucose ที่อยู่ในรูปของแข็ง โดยใช้ปริมาณ 0.1 mM และ 0.02 mM จากผลทดลองพบว่ากรณีที่ใช้ D-glucose 0.1 mM ได้อนุภาคนาโนทองเป็นทรงกลม ส่วนกรณีที่ใช้ D-glucose 0.02 mM อนุภาคที่ได้ส่วนใหญ่มีลักษณะคล้ายรวงเท้าบูท ลูกอืดหรือเป็นแท่งบิดเบี้ยวไม่มีรูปทรง ทั้งนี้สาเหตุอาจเกิดจากสารที่ทำหน้าที่ห่อหุ้มรอบอนุภาคนาโนทองมีปริมาณน้อยหรือมีประสิทธิภาพไม่ดี จึงอาจจะทำให้อนุภาคนาโนทองที่ถูกริ้วตัวสามารถเกิดการสะสมออกไปบางทิศทาง และทำให้ได้เป็นรูปทรงดังกล่าว ดังนั้นปริมาณของสารที่ทำหน้าที่เป็นตัวคงสภาพจึงอาจมีผลต่อขนาดและรูปร่างของอนุภาคด้วย [52]

เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลรูปอนุภาคนาโนทองจากกล้อง TEM สีของสารละลายและลักษณะกราฟจากเครื่อง UV-Vis spectrophotometer พบว่าข้อมูลมีความสอดคล้องกันคือ ปริมาณผงไซยาโนแบคทีเรีย 0.15 และ 0.20 กรัม อนุภาคนาโนทองมีลักษณะเป็นทรงกลม ไม่รวมตัวเป็นกลุ่มก้อน กราฟค่าการดูดกลืนแสงจึงมีพีคที่ไม่กว้าง และสีของสารละลายที่ได้จึงมีสีโทนชมพูม่วง ส่วนปริมาณ

ผงไซยาโนแบคทีเรีย 0.25 และ 0.30 กรัม อนุภาครวมตัวเป็นกลุ่มก้อน พิคของกราฟค่าการดูดกลืนแสงจึงกว้าง และทำให้สีของสารละลายที่ได้มีสีน้ำเงิน ซึ่งผลการทดลองทั้งหมดมีความสอดคล้องกัน

#### 4.4 การศึกษาผลของอายุไซยาโนแบคทีเรียที่มีต่อการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง

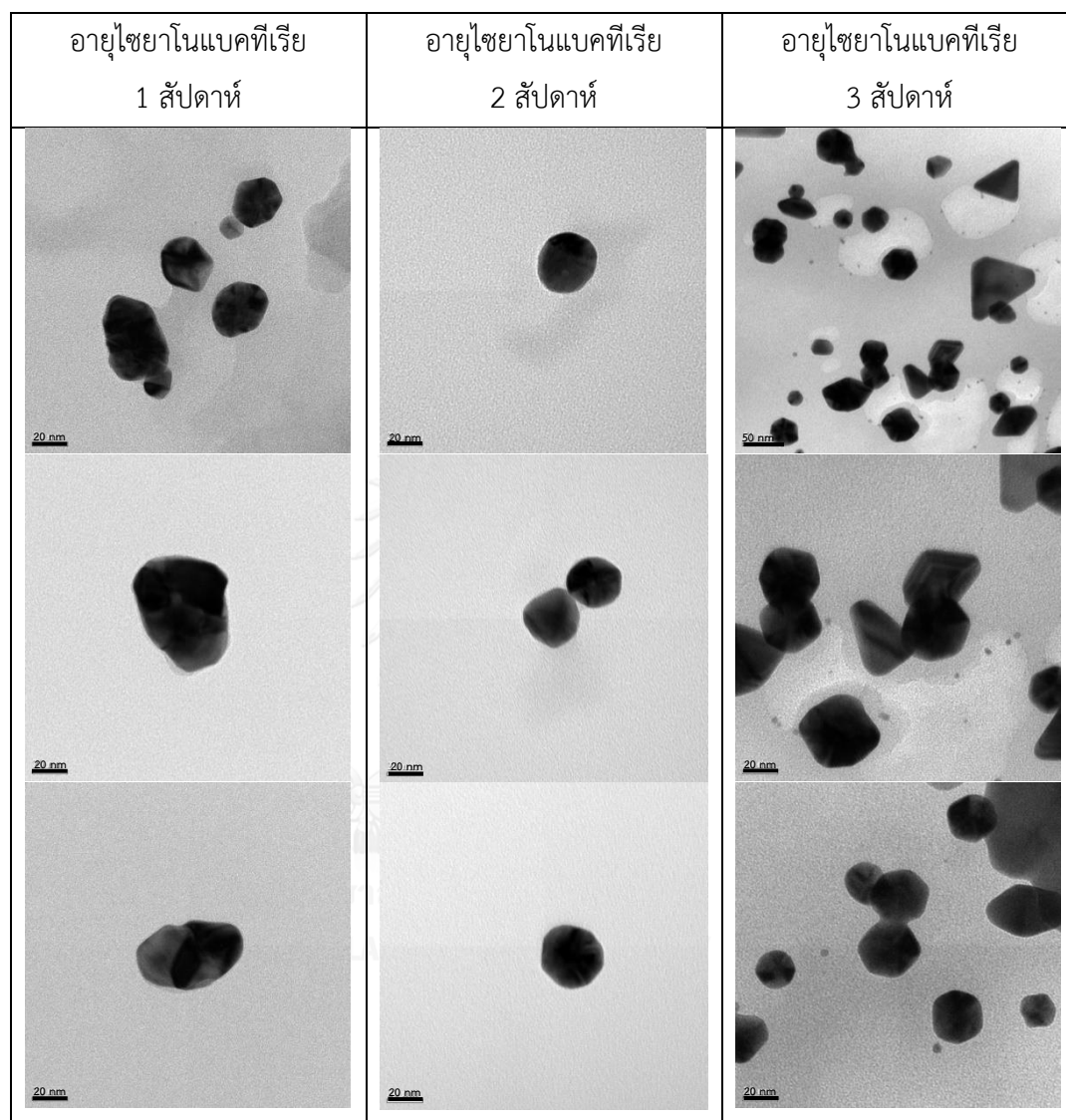
จากการศึกษาอายุของไซยาโนแบคทีเรียที่เจริญในโรงงานพบว่า ไซยาโนแบคทีเรียที่เจริญในเวลา 1 สัปดาห์ มีลักษณะเป็นเส้นสายรวมตัวเป็นกลุ่มก้อนขนาดเล็ก มีปริมาณน้อย และกระจายตัวอยู่บนวัสดุรองรับที่มีตะกอนดินสะสมอยู่ เมื่อไซยาโนแบคทีเรียมีอายุนาน 3 สัปดาห์พบว่า ไซยาโนแบคทีเรียมีสีเขียวเข้ม ปริมาณมากและหนาแน่นมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับอายุ 1 สัปดาห์ และยังพบว่า ไซยาโนแบคทีเรียมีการทับถมกันเป็นชั้น นอกจากนี้ยังสามารถเก็บตัวอย่างได้ง่ายกว่าไซยาโนแบคทีเรียที่มีอายุ 1 สัปดาห์ โดยภาพไซยาโนแบคทีเรียที่เจริญในระบบน้ำหล่อเย็นในโรงงานแสดงให้เห็นในรูปที่ 4.13



รูปที่ 4. 13 รูปไซยาโนแบคทีเรียที่เจริญในโรงงาน (ซ้าย) อายุ 1 สัปดาห์ (ขวา) อายุ 3 สัปดาห์

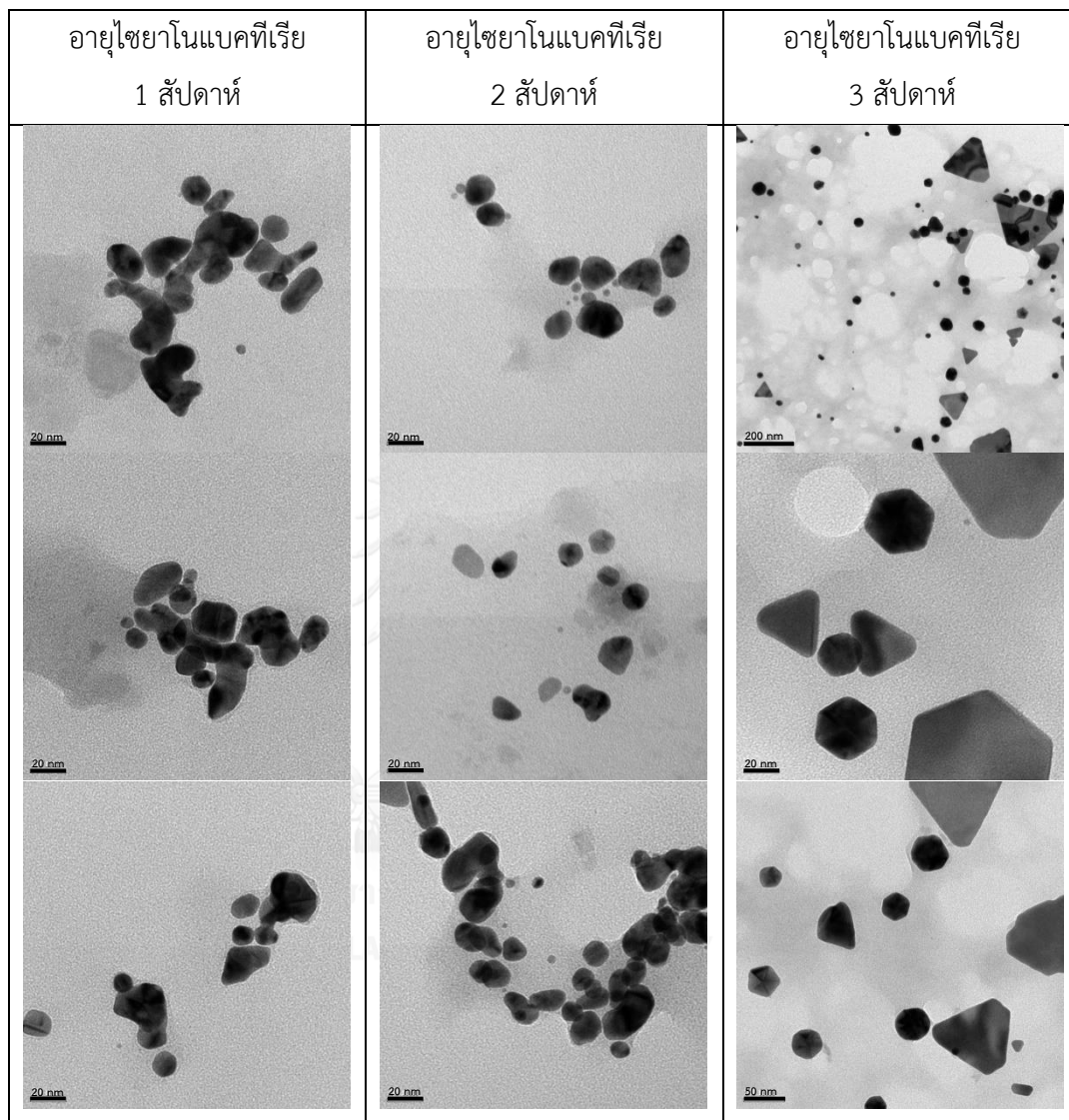
เมื่อนำไซยาโนแบคทีเรียที่เจริญอยู่ในระบบน้ำหล่อเย็นที่มีอายุ 1, 2 และ 3 สัปดาห์ ปริมาณ 0.20 และ 0.25 กรัม มารีดิวซ์สารละลายกรดคอลลอยโรอริก 0.001 M. ปริมาตร 100 mL และวิเคราะห์ด้วยกล้อง TEM ได้ผลดังตารางที่ 4.4 - 4.6

ตารางที่ 4.4 แสดงรูปอนุภาคนาโนทองจากไซยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็นของโรงงาน ที่มีอายุ 1, 2 และ 3 สัปดาห์ เป็นตัวรีดิวซ์ ด้วยปริมาณ 0.20 กรัม ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน



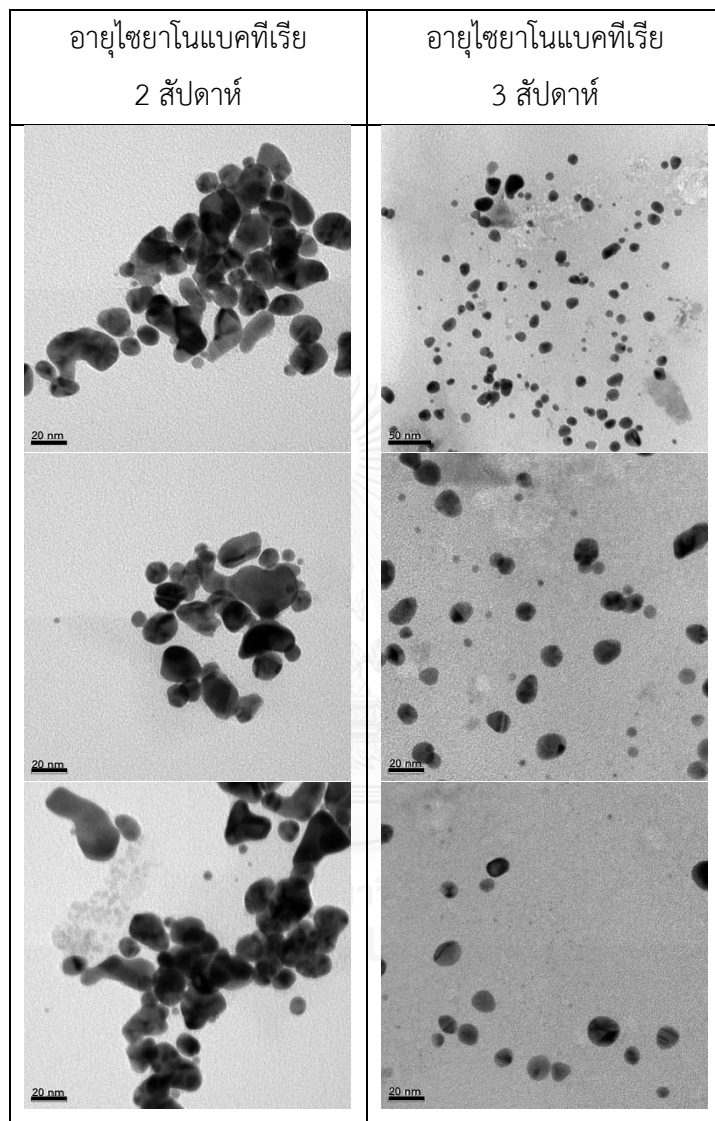
จากตารางที่ 4. 4 รีดิวซ์สารละลายทองด้วยผงไซยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็นปริมาณ 0.20 กรัม พบว่า อนุภาคนาโนทองที่ได้จากไซยาโนแบคทีเรียอายุ 1 สัปดาห์ มีลักษณะเป็นทรงรี ไซยาโนแบคทีเรียอายุ 2 สัปดาห์ มีลักษณะเป็นทรงกลม ส่วนไซยาโนแบคทีเรียอายุ 3 สัปดาห์ อนุภาคนาโนทองที่ได้มีลักษณะเป็นทรงกลม สามเหลี่ยม และมีปริมาณมากกว่าไซยาโนแบคทีเรียอายุ 1 และ 2 สัปดาห์

ตารางที่ 4.5 แสดงรูปอนุภาคนาโนทองจากไซยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็นของโรงงาน ที่มีอายุ 1, 2 และ 3 สัปดาห์ เป็นตัวรีดิวซ์ ด้วยปริมาณ 0.25 กรัม ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน



จากตารางที่ 4. 5 รีดิวซ์สารละลายทองด้วยผงไซยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็นปริมาณ 0.25 กรัม พบว่า อนุภาคนาโนทองมีปริมาณเพิ่มขึ้น โดยไซยาโนแบคทีเรียอายุ 1 สัปดาห์ได้อนุภาคที่มีลักษณะรูปทรงเป็นทรงกลม ทรงรีและแบบไม่มีรูปทรง ไซยาโนแบคทีเรียอายุ 2 สัปดาห์ อนุภาคนาโนทองทรงกลมมีขนาดเล็กลง เมื่อเปรียบเทียบกับไซยาโนแบคทีเรียอายุ 1 สัปดาห์ โดยอนุภาคมีลักษณะเป็นทรงกลม ทรงรีและไม่มีรูปทรง ส่วนไซยาโนแบคทีเรียอายุ 3 สัปดาห์ทำให้ได้อนุภาคนาโนทองที่มีลักษณะเป็นทรงกลม ทรงสามเหลี่ยม และหกเหลี่ยม ซึ่งอนุภาคมีรูปทรงที่ชัดเจนมากกว่าอนุภาคนาโนทองจากการใช้ผงไซยาโนแบคทีเรียอายุ 1 และ 2 สัปดาห์

ตารางที่ 4.6 รูปจาก TEM แสดงรูปอนุภาคนาโนทองจากไซยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็นของโรงงาน ที่มีอายุ 2 และ 3 สัปดาห์ เป็นตัวรีดิวซ์ ด้วยปริมาณ 0.30 กรัม ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน



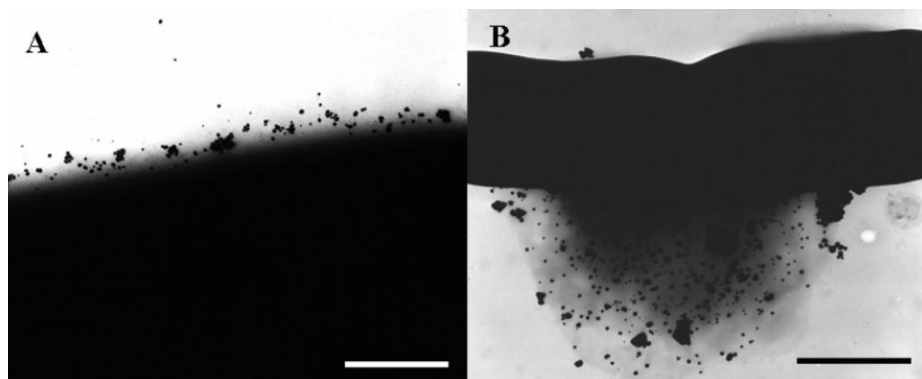
จากตารางที่ 4.6 รีดิวซ์สารละลายทองด้วยผงไซยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็นปริมาณ 0.30 กรัม โดยพบว่า อนุภาคที่ได้มีปริมาณเพิ่มมากขึ้น ซึ่งไซยาโนแบคทีเรียอายุ 2 สัปดาห์ อนุภาคที่ได้มีรูปทรงเป็นทรงกลมและแบบไม่มีรูปทรงมีปริมาณมาก ส่วนไซยาโนแบคทีเรียอายุ 3 สัปดาห์ พบว่าอนุภาคที่ได้ส่วนใหญ่เป็นทรงกลม มีขนาดเล็กและมีปริมาณมาก

ตารางที่ 4.7 แสดงผลการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองด้วยไซยาโนแบคทีเรียที่เจริญในระบบน้ำหล่อเย็นใน โรงงานที่มีอายุ 1-3 สัปดาห์ ด้วยปริมาณผงไซยาโนแบคทีเรีย 0.20 และ 0.25 กรัม ซึ่งวิเคราะห์ลักษณะรูปร่างอนุภาคด้วยภาพจากรูป TEM และวิเคราะห์ขนาดอนุภาคด้วยโปรแกรม SemAfore 5.21 จากรูป TEM

| อายุไซยาโนแบคทีเรีย (สัปดาห์) | ปริมาณผงไซยาโนแบคทีเรีย (กรัม) | ลักษณะรูปร่างอนุภาค | ขนาดอนุภาค (nm) |                   |            |
|-------------------------------|--------------------------------|---------------------|-----------------|-------------------|------------|
|                               |                                |                     | ขนาดที่พบ       | ขนาดที่พบส่วนใหญ่ | ขนาดเฉลี่ย |
| 1                             | 0.20                           | ทรงกลม              | 13.3-30.2       | -                 | 20.43      |
|                               |                                | ไม่เป็นรูปทรง       | 32.8-69.7       | 60-70             | 51.28      |
|                               | 0.25                           | ทรงกลม              | 9.8-16.7        | 10-15             | 13.33      |
|                               |                                | ไม่เป็นรูปทรง       | 15.8-48.7       | 20-30             | 29.36      |
| 2                             | 0.20                           | ทรงกลม              | 31.5-37.2       | 30-35             | 34.02      |
|                               | 0.25                           | ทรงกลม ทรงรี        | 10.6-20.6       | 10-15             | 15.38      |
|                               |                                | ไม่เป็นรูปทรง       | 16.7-37.4       | 20-25             | 23.63      |
|                               | 0.30                           | ทรงกลม              | 5.99-22.2       | 10-15             | 15.38      |
|                               |                                | ไม่เป็นรูปทรง       | 16.2-59.4       | 15-20             | 26.96      |
| 3                             | 0.20                           | ทรงกลม              | 16.8-62.4       | 30-35             | 32.54      |
|                               |                                | ทรงสามเหลี่ยม       | 21.5-84.1       | 45-60             | 50.15      |
|                               | 0.25                           | ทรงกลม              | 19.9-60.0       | 20-25             | 37.07      |
|                               |                                | ทรงสามเหลี่ยม       | 22.7-235.8      | 60-65             | 76.29      |
|                               | 0.30                           | ทรงกลม              | 4.7-22.0        | 10-15             | 12.33      |

จากผลการทดลองพบว่า ไซยาโนแบคทีเรียที่มีอายุ 3 สัปดาห์ จะได้อนุภาคนาโนทองที่มีปริมาณอนุภาคมากกว่าไซยาโนแบคทีเรียที่มีอายุ 2 และ 1 สัปดาห์ ในขณะที่ไซยาโนแบคทีเรียที่มีอายุ 1 สัปดาห์จะได้อนุภาคที่มีลักษณะเป็นทรงรีหรือแบบไม่มีรูปทรง ส่วนไซยาโนแบคทีเรียที่มีอายุ 2 สัปดาห์ได้อนุภาคที่มีลักษณะเป็นทรงกลมมีขนาดเล็กแต่มีจำนวนน้อยกว่าอนุภาคแบบไม่มีรูปทรงอยู่มาก ไซยาโนแบคทีเรียที่มีอายุ 3 สัปดาห์ ที่ปริมาณ 0.20 และ 0.25 กรัม ได้อนุภาคหลายรูปทรง

เช่น ทรงกลม ทรงสามเหลี่ยม ทรงสี่เหลี่ยมขนมเปียกปูน ทรงพีระมิดคู่ฐาน 5 เหลี่ยม ส่วนปริมาณ 0.30 กรัม มีเพียงอนุภาคทรงกลม ดังแสดงในตารางที่ 4.4 - 4.6



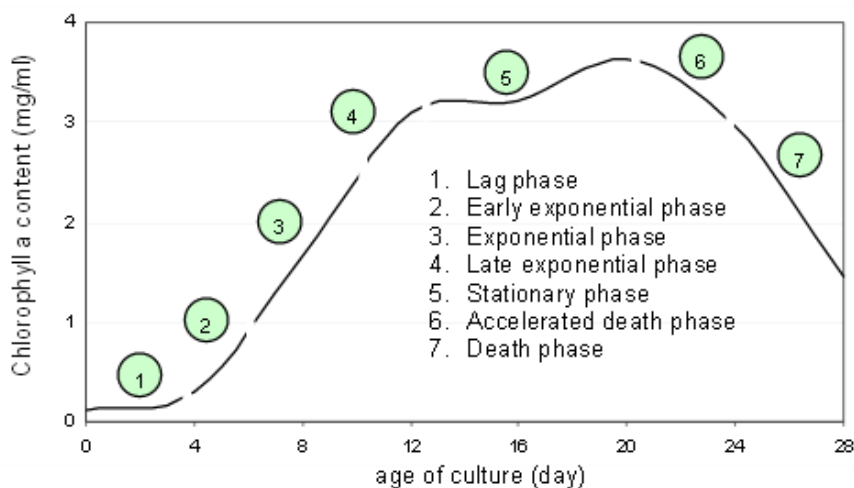
รูปที่ 4. 14 แสดงอนุภาคนาโนทองที่เกิดบริเวณต่างๆของไซยาโนแบคทีเรียแบบเส้นสาย (A) บริเวณผนังเซลล์ (B) บริเวณที่เซลล์เกิดรอยร้าวที่มีสารจากภายในเซลล์ไหลออกมา [33]

จากงานวิจัยของ M.F. Lengke และคณะ (2006) ที่ได้ทำการศึกษาการเกิดอนุภาคนาโนทอง โดยการใช้ไซยาโนแบคทีเรียแบบเส้นสายที่มีชีวิต (*Plectonema boryanum* UTEX485) ในการรีดิวซ์สารละลายทอง ซึ่งพบว่าสารละลายทองถูกรีดิวซ์และกลายเป็นอนุภาคนาโนทองบริเวณผนังเซลล์ด้านนอกของไซยาโนแบคทีเรียดังแสดงในรูปที่ 4.14 (A) นอกจากนี้ยังพบการเกิดอนุภาคนาโนทองบริเวณที่เกิดรอยร้าวของเซลล์และมีสารจากภายในเซลล์ไหลออกมา ซึ่งบริเวณดังกล่าวนี้มีอนุภาคนาโนทองเกิดขึ้นในปริมาณที่มากกว่าบริเวณผนังเซลล์ที่อื่น แสดงให้เห็นว่าสารจากภายในเซลล์ของไซยาโนแบคทีเรียมีผลต่อการเกิดอนุภาคนาโนทอง และนอกจากนี้บริเวณที่เป็นผนังเซลล์ก็มีผลต่อการเกิดอนุภาคนาโนทองด้วยเช่นกัน [33]

จากการศึกษาลักษณะโครงสร้างและองค์ประกอบภายในเซลล์ของไซยาโนแบคทีเรียพบว่าไซยาโนแบคทีเรียที่อายุต่างๆจะมีการสร้างสารภายในเซลล์ที่แตกต่างกัน ซึ่งในช่วงแรกจะมีการสร้างสารที่เรียกว่า Primary Metabolites คือสารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตและการดำรงชีพ ได้แก่สารจำพวกกรดอะมิโน (Amino acids) กรดไขมัน (Fatty acids) นิวคลีโอไทด์ (Nucleotides) น้ำตาล (Sugar) เป็นต้น จากรูปที่ 4.15 ช่วงที่มีการสร้างสาร Primary Metabolites เป็นจำนวนมากอยู่ในช่วง 2-4 และเมื่อเข้าสู่ช่วงที่ 5 Stationary phase จะมีการสร้างสาร Secondary Metabolites เป็นสารที่สร้างเพื่อวัตถุประสงค์อื่นที่ไม่จำเป็นต่อการดำรงชีพ เช่น สารป้องกันตัว เมือก สารปฏิชีวนะ โดยใช้สาร Primary Metabolites เป็นสารตั้งต้นในการผลิต

เมื่อไซยาโนแบคทีเรียมีอายุมากขึ้นอยู่ในช่วง stationary phase จะมีสารที่สามารถรีดิวซ์สารละลายทองมากขึ้นจึงทำให้อนุภาคนาโนทองมีปริมาณมากขึ้น นอกจากนี้สารเหล่านี้ยังเป็นสารคง

สภาพ ทำหน้าที่ห่อหุ้มอนุภาคนาโนทอง ป้องกันไม่ให้อนุภาคนาโนทองรวมตัวกันกลายเป็นอนุภาคขนาดใหญ่ได้ [50] เมื่อนำไซยาโนแบคทีเรียที่อยู่ในระยะนี้มาสังเคราะห์จะทำให้สามารถสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองที่มีปริมาณมากได้และมีขนาดใกล้เคียงกัน



รูปที่ 4. 15 รูปแสดงช่วงการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรีย

ส่วนอนุภาคนาโนทองทรงสามเหลี่ยมและหกเหลี่ยมที่เกิดขึ้นนั้น มีความสอดคล้องกับผลการทดลองของ M.M.H. Khalil และคณะ 2010 ที่ได้ศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองด้วยสารสกัดจากใบมะกอก พบว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของสารสกัดจากใบมะกอกน้อย อนุภาคที่ได้มีลักษณะเป็นแบบ ทรงกลม สามเหลี่ยม และหกเหลี่ยม แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดใบมะกอกมากขึ้น พบว่าอนุภาคทรงสามเหลี่ยมและหกเหลี่ยมหายไป ปรากฏเพียงอนุภาคทรงกลม เนื่องจากมีสารที่ทำหน้าที่ห่อหุ้มอนุภาคมากขึ้นจึงควบคุมการขยายขนาดและการรวมตัวของอนุภาค [53]

รูปทรงของอนุภาคนาโนทองยังเกี่ยวข้องกับ Relative specific surface energy ที่พื้นผิวของผลึกอนุภาคนาโน ซึ่งที่สภาวะสมดุลผลึกมักจะประพฤติตัวให้พื้นผิวมีลักษณะเรียบเพื่อทำให้พลังงานที่พื้นผิวมีค่าน้อยที่สุด โดยพลังงานนี้จะเกี่ยวข้องกับสารที่ทำหน้าที่ห่อหุ้มอนุภาคนาโนด้วย และรูปร่างอนุภาคยังเกี่ยวกับอัตราการสร้างผลึกของอนุภาค ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของสารห่อหุ้มเช่นกัน ดังนั้น สารห่อหุ้มอนุภาคจึงมีผลต่อรูปทรงของอนุภาคชนิดต่างๆ [50]

ดังนั้นเมื่อนำไซยาโนแบคทีเรียจากระบบน้ำหล่อเย็นที่มีอายุ 3 สัปดาห์มาสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองจะได้อนุภาคนาโนทองที่มีขนาดใกล้เคียงกัน อนุภาคกระจายตัวไม่รวมเป็นกลุ่มก้อนและมีปริมาณมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับไซยาโนแบคทีเรียที่มีอายุน้อยกว่า

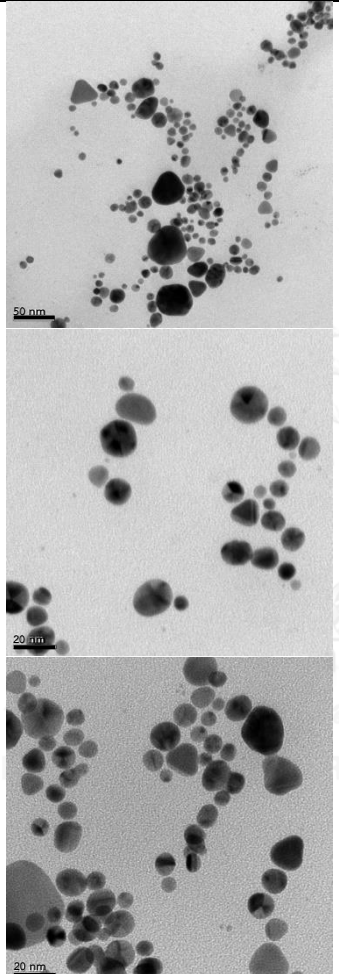
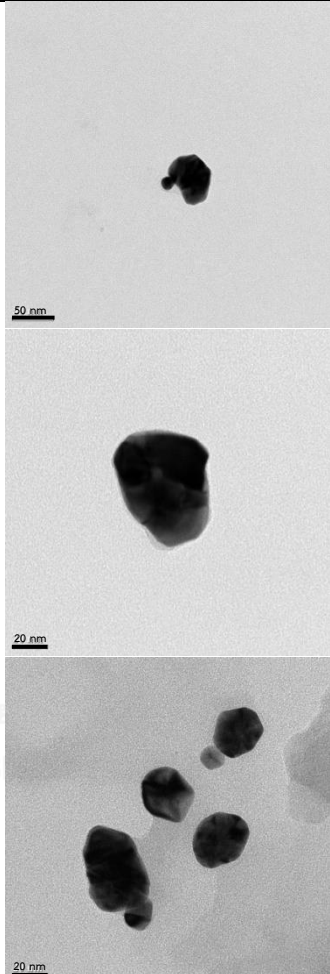


#### 4.5 การเปรียบเทียบลักษณะอนุภาคนาโนทองจากการใช้ผงไซยาโนแบคทีเรียจากห้องปฏิบัติการ และจากระบบน้ำหล่อเย็นในโรงงาน

เนื่องจากในระบบน้ำหล่อเย็นมีการเจริญของสิ่งมีชีวิตหลายชนิด ไม่ว่าจะเป็นแบคทีเรีย เชื้อรา รวมทั้งสาหร่ายชนิดอื่นที่อาจมีการเจริญร่วมกับไซยาโนแบคทีเรียที่สนใจ และนอกจากนี้อาจมีแร่ธาตุในน้ำหล่อเย็นอาจมีผลต่อการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง ดังนั้นจึงทำการทดลองศึกษาเปรียบเทียบอนุภาคนาโนทองจากการใช้ไซยาโนแบคทีเรียที่เจริญในระบบน้ำหล่อเย็นและไซยาโนแบคทีเรียที่เจริญอยู่ในระบบน้ำหล่อเย็นที่นำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ (โดยนำมาคัดแยกสายพันธุ์ให้เหลือเพียงไซยาโนแบคทีเรียแบบเส้นสายและทำให้บริสุทธิ์) ว่ามีผลแตกต่างกันอย่างไร

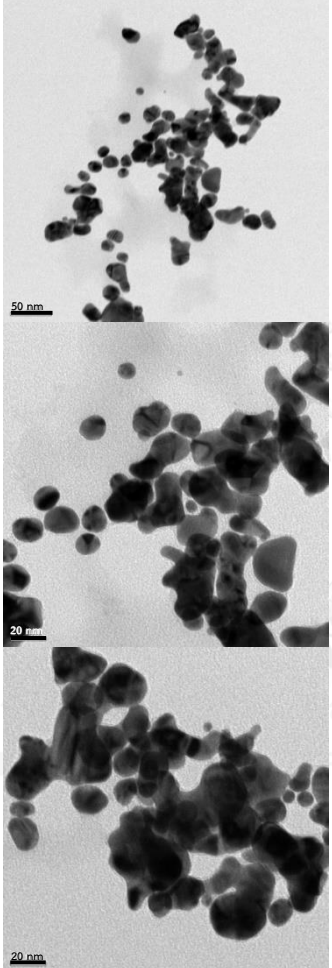
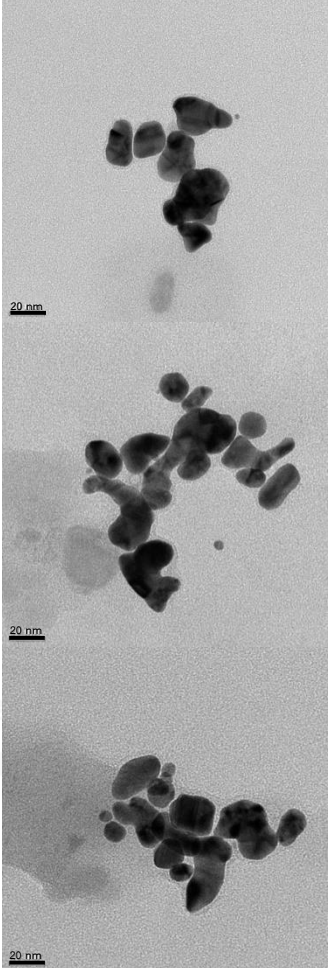
จากผลการทดลองพบว่าไซยาโนแบคทีเรียที่เจริญในระบบน้ำหล่อเย็นสามารถสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองได้ใกล้เคียงกับไซยาโนแบคทีเรียที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ โดยลักษณะรูปร่างของอนุภาคที่ใช้ไซยาโนแบคทีเรียจากห้องปฏิบัติการสังเคราะห์ได้นั้นมีทั้งลักษณะที่เป็นทรงกลม ทรงรี ทรงสามเหลี่ยม และลักษณะไม่มีรูปทรง โดยรูปร่างลักษณะดังกล่าวนี้ก็พบในไซยาโนแบคทีเรียจากระบบน้ำหล่อเย็นเช่นกัน ซึ่งบางสภาวะอนุภาคนาโนทองที่สังเคราะห์ได้มีลักษณะรูปร่างและขนาดรูปร่างใกล้เคียงกัน แต่บางสภาวะก็ให้ผลที่แตกต่างกันดังแสดงให้เห็นในตารางที่ 4.8 - 4.16

ตารางที่ 4.8 รูปจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) แสดงลักษณะรูปร่างและขนาดของอนุภาคนาโนทอง จากการรีดิวซ์ด้วยไซยาโนแบคทีเรียจากห้องปฏิบัติการและในระบบน้ำหล่อเย็น อายุ 1 สัปดาห์ ปริมาณ 0.20 กรัม

| ปริมาณไซยาโนแบคทีเรีย (กรัม) | อนุภาคนาโนทองจากผงไซยาโนแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการ                                  | อนุภาคนาโนทองจากผงไซยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็นของโรงงาน                         |
|------------------------------|--|---|
| 0.20                         |  |  |

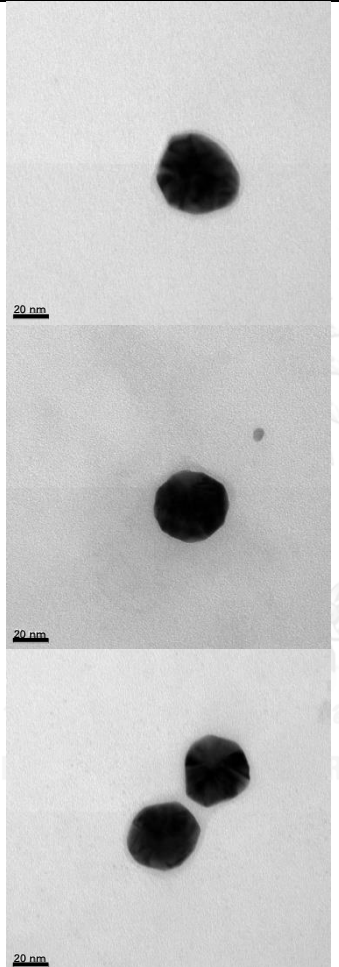
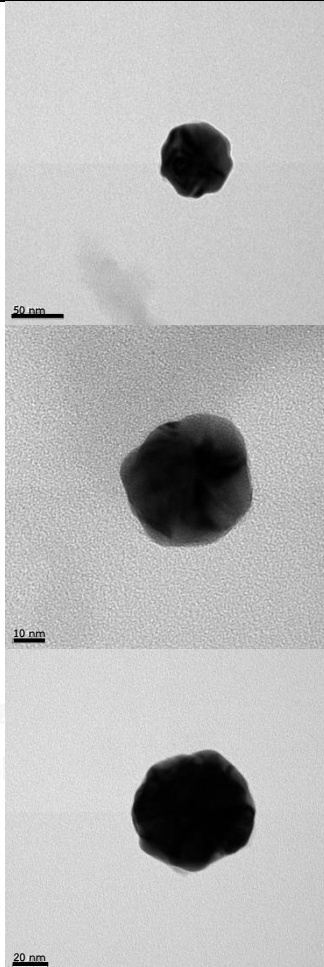
จากตารางที่ 4.8 จากผงไซยาโนแบคทีเรียอายุ 1 สัปดาห์ ปริมาณ 0.20 กรัม อนุภาคนาโนทองจากไซยาโนแบคทีเรียที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการมีขนาดเฉลี่ย 10.81 nm มีปริมาณมาก ส่วนใหญ่มีลักษณะกลม ส่วนอนุภาคนาโนทองจากไซยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็น มีขนาดใหญ่กว่า มีค่าเฉลี่ยที่ 51.28 nm มีปริมาณน้อยและรูปร่างเป็นทรงรี

ตารางที่ 4.9 รูปจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) แสดงลักษณะรูปร่างและขนาดของอนุภาคนาโนทอง จากการรีดิวซ์ด้วยไซยาโนแบคทีเรียจากห้องปฏิบัติการและในระบบน้ำหล่อเย็น อายุ 1 สัปดาห์ ปริมาณ 0.25 กรัม

| ปริมาณไซยาโนแบคทีเรีย (กรัม) | อนุภาคนาโนทองจากผงไซยาโนแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการ                                  | อนุภาคนาโนทองจากผงไซยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็นของโรงงาน                         |
|------------------------------|--|---|
| 0.25                         |  |  |

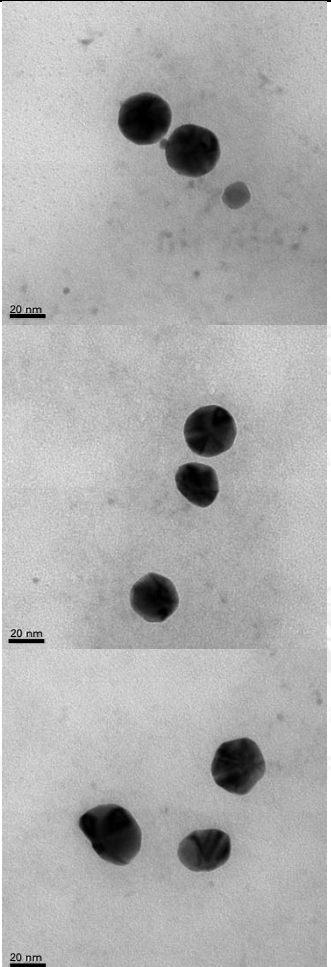
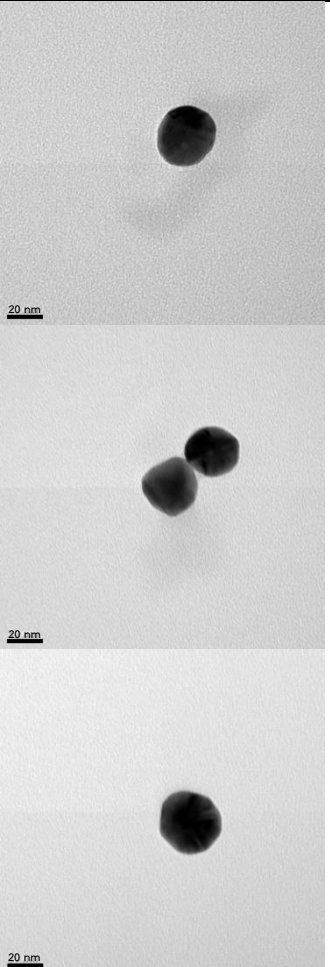
จากตารางที่ 4.9 จากผงไซยาโนแบคทีเรียอายุ 1 สัปดาห์ ปริมาณ 0.25 กรัม พบว่าอนุภาคจากไซยาโนแบคทีเรียทั้งสองแหล่งที่มา มีลักษณะคล้ายกัน อนุภาคทรงกลมจากไซยาโนแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการมีขนาดเฉลี่ย 15.15 nm. และมีอนุภาคที่ไม่มีรูปร่างขนาดเฉลี่ย 32.30 nm. โดยอนุภาคนาโนทองทรงกลมจากไซยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็นมีขนาดเฉลี่ย 13.33 nm. และแบบไม่มีรูปร่างมีขนาดเฉลี่ย 29.36 nm.

ตารางที่ 4.10 รูปจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) แสดงลักษณะรูปร่างและขนาดของอนุภาคนาโนทอง จากการรีดิวซ์ด้วยไซยาโนแบคทีเรียจากห้องปฏิบัติการและในระบบน้ำหล่อเย็น อายุ 2 สัปดาห์ ปริมาณ 0.15 กรัม

| ปริมาณไซยาโนแบคทีเรีย (กรัม) | อนุภาคนาโนทองจากผงไซยาโนแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการ                                  | อนุภาคนาโนทองจากผงไซยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็นของโรงงาน                         |
|------------------------------|--|---|
| 0.15                         |  |  |

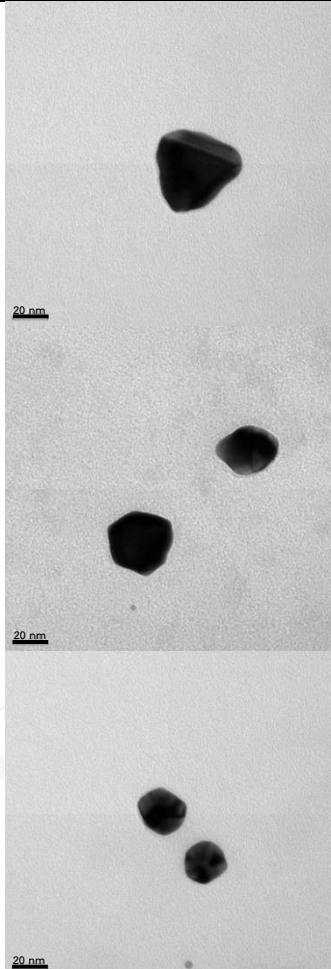
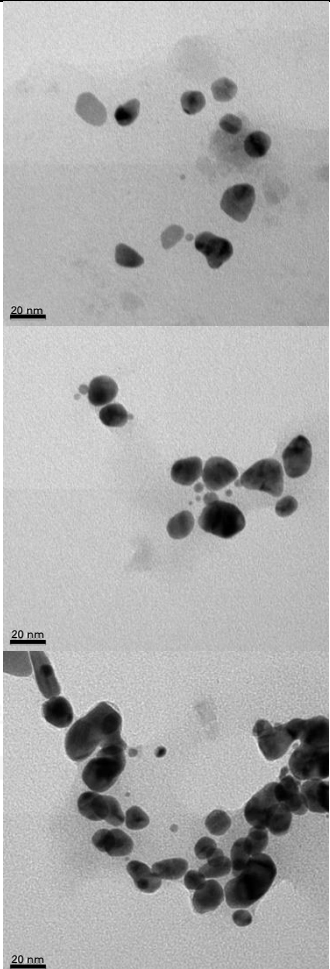
จากตารางที่ 4.10 จากผงไซยาโนแบคทีเรียอายุ 2 สัปดาห์ ปริมาณ 0.15 กรัม พบว่าอนุภาคนาโนทองมีลักษณะเป็นทรงกลมเหมือนกัน แต่อนุภาคจากไซยาโนแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการมีขนาดเฉลี่ย 43.05 nm. อนุภาคจากไซยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็นมีขนาดเฉลี่ย 63.3 nm. และอนุภาคมีปริมาณใกล้เคียงกัน

ตารางที่ 4.11 รูปจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) แสดงลักษณะรูปร่างและขนาดของอนุภาคนาโนทอง จากการรีดิวซ์ด้วยไซยาโนแบคทีเรียจากห้องปฏิบัติการและในระบบน้ำหล่อเย็น อายุ 2 สัปดาห์ ปริมาณ 0.20 กรัม

| ปริมาณไซยาโนแบคทีเรีย (กรัม) | อนุภาคนาโนทองจากผงไซยาโนแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการ                                  | อนุภาคนาโนทองจากผงไซยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็นของโรงงาน                         |
|------------------------------|--|---|
| 0.20                         |  |  |

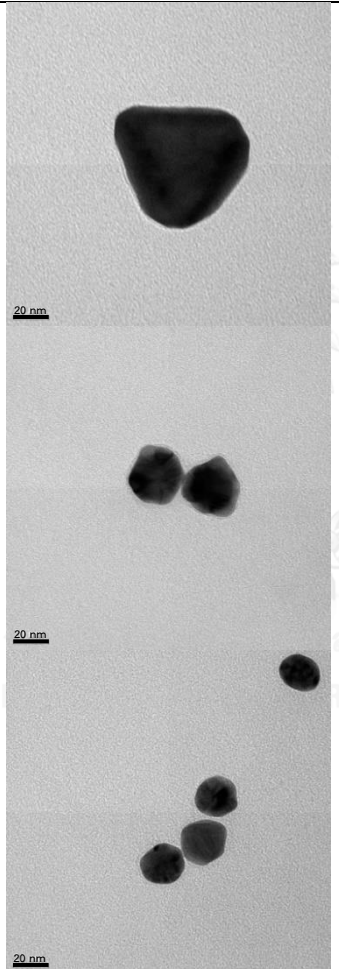
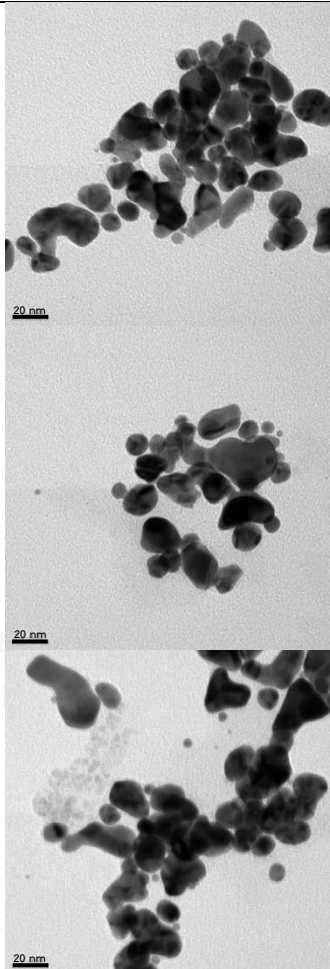
จากตารางที่ 4.11 จากผงไซยาโนแบคทีเรียอายุ 2 สัปดาห์ ปริมาณ 0.20 กรัม พบว่าอนุภาคนาโนทองมีลักษณะเป็นทรงกลมเหมือนกัน มีขนาดใกล้เคียงกัน และพบปริมาณที่ใกล้เคียงกัน โดยอนุภาคนาโนทองจากไซยาโนแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการมีขนาดเฉลี่ย 31.65 nm. ส่วนจากไซยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็นมีขนาดเฉลี่ย 34.20 nm.

ตารางที่ 4.12 รูปจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) แสดงลักษณะรูปร่างและขนาดของอนุภาคนาโนทอง จากการรีดิวซ์ด้วยไซยาโนแบคทีเรียจากห้องปฏิบัติการและในระบบน้ำหล่อเย็น อายุ 2 สัปดาห์ ปริมาณ 0.25 กรัม

| ปริมาณไซยาโนแบคทีเรีย (กรัม) | อนุภาคนาโนทองจากผงไซยาโนแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการ                                  | อนุภาคนาโนทองจากผงไซยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็นของโรงงาน                         |
|------------------------------|--|---|
| 0.25                         |  |  |

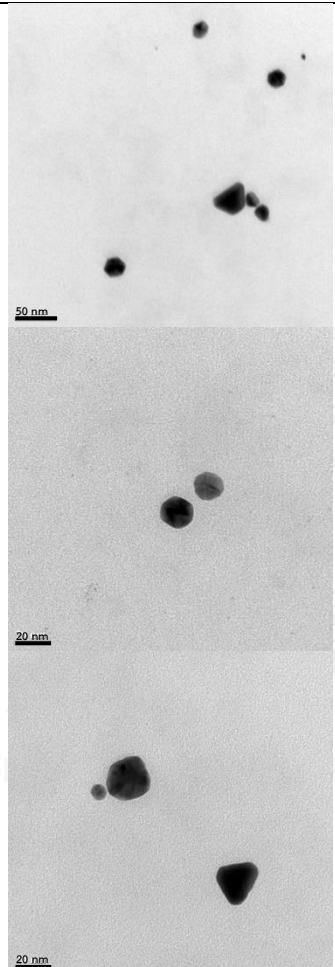
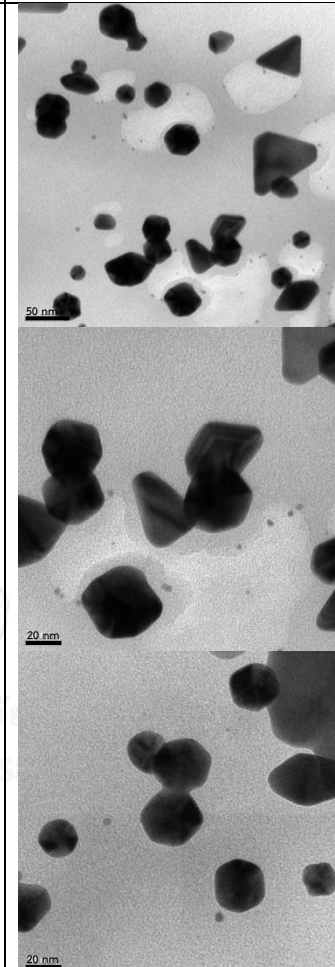
จากตารางที่ 4.12 จากผงไซยาโนแบคทีเรียอายุ 2 สัปดาห์ ปริมาณ 0.25 กรัม อนุภาคนาโนทองจากไซยาโนแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการมีลักษณะเป็นทรงกลมรี มีขนาดเฉลี่ย 32.27 nm. และพบรูปทรงสามเหลี่ยม โดยมีปริมาณน้อย ในขณะที่อนุภาคนาโนทองจากไซยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็นพบอนุภาคทรงกลมมีขนาดเฉลี่ย 15.38 nm. และพบอนุภาคแบบไม่มีรูปทรงขนาดเฉลี่ย 23.63 nm. ซึ่งอนุภาคที่พบมีปริมาณมากกว่าอนุภาคนาโนทองจากไซยาโนแบคทีเรียจากห้องปฏิบัติการ

ตารางที่ 4.13 รูปจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) แสดงลักษณะรูปร่างและขนาดของอนุภาคนาโนทอง จากการรีดิวซ์ด้วยไซยาโนแบคทีเรียจากห้องปฏิบัติการและในระบบน้ำหล่อเย็น อายุ 2 สัปดาห์ ปริมาณ 0.30 กรัม

| ปริมาณไซยาโนแบคทีเรีย (กรัม) | อนุภาคนาโนทองจากผงไซยาโนแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการ                                  | อนุภาคนาโนทองจากผงไซยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็นของโรงงาน                         |
|------------------------------|--|---|
| 0.30                         |  |  |

จากตารางที่ 4.13 จากผงไซยาโนแบคทีเรียอายุ 2 สัปดาห์ ปริมาณ 0.30 กรัม อนุภาคนาโนทองจากไซยาโนแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการมีลักษณะเป็นทรงกลมรี มีขนาดเฉลี่ย 28.65 nm. และพบรูปทรงสามเหลี่ยมซึ่งมีปริมาณน้อย ในขณะที่อนุภาคนาโนทองจากไซยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็น อนุภาคทรงกลมมีขนาดเล็กกว่ามีขนาดเฉลี่ย 15.38 nm. และพบอนุภาคแบบไม่มีรูปทรงมีขนาดเฉลี่ย 26.96 nm. ซึ่งอนุภาคที่พบมีปริมาณมากกว่าอนุภาคนาโนทองจากไซยาโนแบคทีเรียจากห้องปฏิบัติการ

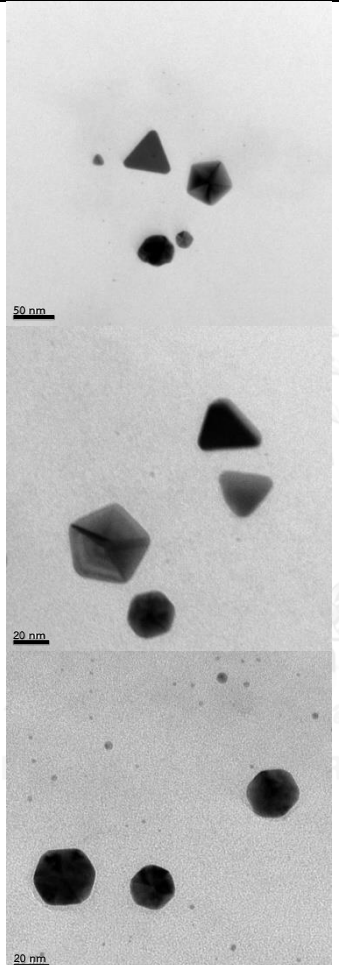
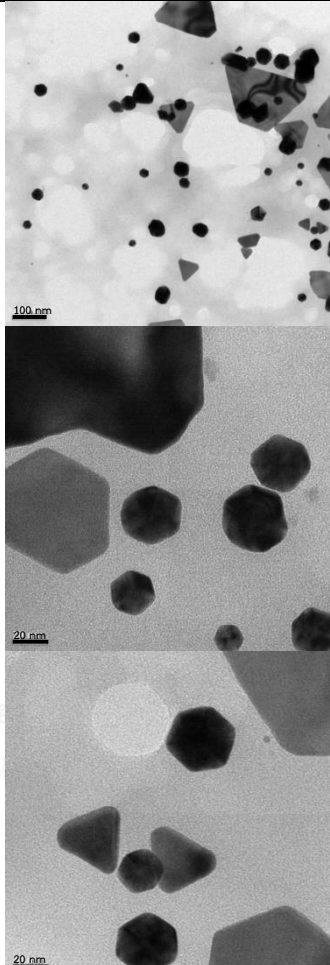
ตารางที่ 4.14 รูปจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) แสดงลักษณะรูปร่างและขนาดของอนุภาคนาโนทอง จากการรีดิวซ์ด้วยไซยาโนแบคทีเรียจากห้องปฏิบัติการและในระบบน้ำหล่อเย็น อายุ 3 สัปดาห์ ปริมาณ 0.20 กรัม

| ปริมาณไซยาโนแบคทีเรีย (กรัม) | อนุภาคนาโนทองจากผงไซยาโนแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการ                                  | อนุภาคนาโนทองจากผงไซยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็นของโรงงาน                         |
|------------------------------|--|---|
| 0.20                         |  |  |

จากตารางที่ 4.14 อนุภาคนาโนทองจากไซยาโนแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการ ได้อนุภาคทรงกลมมีขนาดเฉลี่ย 23.71 nm. และทรงสามเหลี่ยม 38.43 nm. ส่วนอนุภาคนาโนทองจากไซยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็นมีลักษณะเป็นทรงกลมมีขนาดเฉลี่ย 32.54 nm. และทรงสามเหลี่ยมมีขนาดเฉลี่ย 56.15 nm. โดยพบว่าปริมาณอนุภาคมากกว่าอนุภาคที่ใช้ผงไซยาโนแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการ

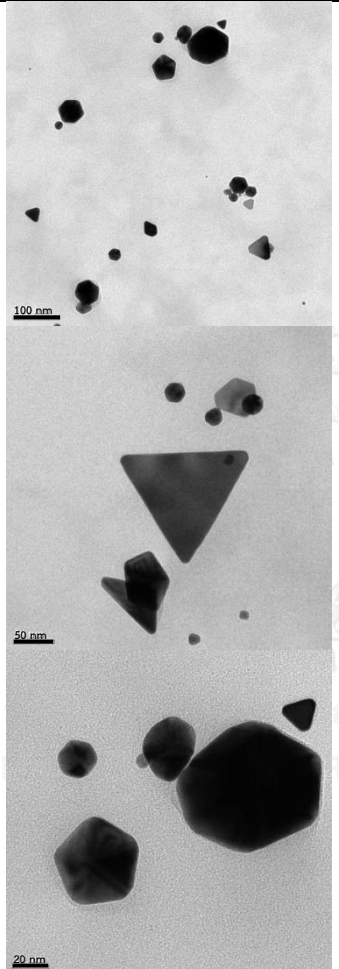
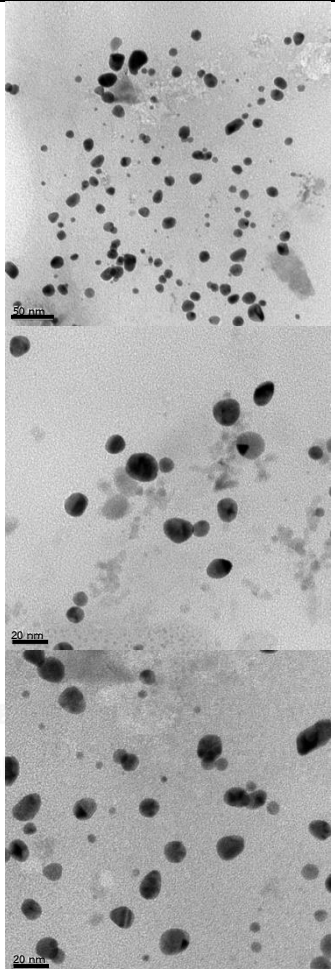


ตารางที่ 4.15 รูปจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) แสดงลักษณะรูปร่างและขนาดของอนุภาคนาโนทอง จากการรีดิวซ์ด้วยไซยาโนแบคทีเรียจากห้องปฏิบัติการและในระบบน้ำหล่อเย็น อายุ 3 สัปดาห์ ปริมาณ 0.25 กรัม

| ปริมาณไซยาโนแบคทีเรีย (กรัม) | อนุภาคนาโนทองจากผงไซยาโนแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการ                                  | อนุภาคนาโนทองจากผงไซยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็นของโรงงาน                         |
|------------------------------|--|---|
| 0.25                         |  |  |

จากตารางที่ 4.15 อนุภาคนาโนทองจากไซยาโนแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการ ได้อนุภาคทรงกลมมีขนาดเฉลี่ย 31.52 nm. และทรงสามเหลี่ยม 42.05 nm. ส่วนอนุภาคนาโนทองจากไซยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็นมีลักษณะเป็นทรงกลมมีขนาดเฉลี่ย 37.07 nm. และทรงสามเหลี่ยมมีขนาดเฉลี่ย 76.29 nm. และมีปริมาณมากกว่าอนุภาคนาโนทองที่ใช้ไซยาโนแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการ

ตารางที่ 4.16 รูปจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) แสดงลักษณะรูปร่างและขนาดของอนุภาคนาโนทอง จากการรีดิวซ์ด้วยไซยาโนแบคทีเรียจากห้องปฏิบัติการและในระบบน้ำหล่อเย็น อายุ 3 สัปดาห์ ปริมาณ 0.30 กรัม

| ปริมาณไซยาโนแบคทีเรีย (กรัม) | อนุภาคนาโนทองจากผงไซยาโนแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการ                                  | อนุภาคนาโนทองจากผงไซยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็นของโรงงาน                         |
|------------------------------|--|---|
| 0.30                         |  |  |

จากตารางที่ 4.15 อนุภาคนาโนทองจากไซยาโนแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการ ได้อนุภาคทรงกลมมีขนาดเฉลี่ย 34.11 nm. และทรงสามเหลี่ยม 61.26 nm. ส่วนอนุภาคนาโนทองจากไซยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็นส่วนใหญ่เป็นอนุภาคทรงกลมมีขนาดเฉลี่ย 12.33 nm. และมีปริมาณมากกว่าอนุภาคนาโนทองจากไซยาโนแบคทีเรียจากระบบน้ำหล่อเย็น

ตารางที่ 4.17 แสดงข้อมูลเปรียบเทียบรูปร่างและขนาดอนุภาคที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยไฮยาโนแบคทีเรียจากระบบน้ำหล่อเย็นและห้องปฏิบัติการ ที่อายุและปริมาณผงไฮยาโนแบคทีเรียต่างๆ

| อายุไฮยาโนแบคทีเรีย (สัปดาห์) | ปริมาณผงไฮยาโนแบคทีเรีย (กรัม) | ไฮยาโนแบคทีเรียจากระบบน้ำหล่อเย็น |                        |                 | ไฮยาโนแบคทีเรียจากห้องปฏิบัติการ |                        |                 |
|-------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|------------------------|-----------------|----------------------------------|------------------------|-----------------|
|                               |                                | รูปร่างอนุภาค                     | ขนาดที่พบส่วนใหญ่ (nm) | ขนาดเฉลี่ย (nm) | รูปร่างอนุภาค                    | ขนาดที่พบส่วนใหญ่ (nm) | ขนาดเฉลี่ย (nm) |
| 1                             | 0.20                           | ทรงกลม                            | 13-30                  | 20.43           | ทรงกลม                           | 5-10                   | 10.81           |
|                               |                                | ไม่เป็นรูปทรง                     | 32-69                  | 51.28           | ทรงสามเหลี่ยม                    | 14-57                  | 31.65           |
|                               | 0.25                           | ทรงกลม                            | 10-15                  | 13.33           | ทรงกลม                           | 10-15                  | 15.15           |
|                               |                                | ไม่เป็นรูปทรง                     | 20-30                  | 29.36           | ไม่เป็นรูปทรง                    | 25-30                  | 32.3            |
| 2                             | 0.15                           | ทรงกลม                            | 65-70                  | 63.3            | ทรงกลม                           | 40-50                  | 43.05           |
|                               |                                | 0.20                              | ทรงกลม                 | 30-35           | 34.2                             | ทรงกลม                 | 30-35           |
|                               | 0.25                           | ทรงกลม                            | 10-15                  | 15.38           | ทรงกลม                           | 25-40                  | 32.27           |
|                               |                                | ไม่เป็นรูปทรง                     | 20-25                  | 23.63           | ทรงสามเหลี่ยม                    | -                      | 43.70           |
|                               | 0.30                           | ทรงกลม                            | 10-15                  | 12.78           | ทรงกลม                           | 25-30                  | 28.65           |
|                               |                                | ไม่เป็นรูปทรง                     | 15-20                  | 26.96           | ทรงสามเหลี่ยม                    | -                      | 68.00           |
| 3                             | 0.20                           | ทรงกลม                            | 30-35                  | 32.54           | ทรงกลม                           | 15-25                  | 23.71           |
|                               |                                | ทรงสามเหลี่ยม                     | 45-60                  | 50.15           | ทรงสามเหลี่ยม                    | 20-40                  | 38.43           |
|                               | 0.25                           | ทรงกลม                            | 20-25                  | 37.07           | ทรงกลม                           | 25-30                  | 31.52           |
|                               |                                | ทรงสามเหลี่ยม                     | 60-65                  | 76.29           | ทรงสามเหลี่ยม                    | 30-40                  | 42.06           |
|                               | 0.30                           | ทรงกลม                            | 10-15                  | 12.33           | ทรงกลม                           | 25-30                  | 34.11           |
|                               |                                | -                                 | -                      | -               | ทรงสามเหลี่ยม                    | 17-136                 | 61.26           |

ตารางที่ 4.18 แสดงข้อมูลการเปรียบเทียบอนุภาคนาโนทองที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยไฮยาโนแบคทีเรียจากระบบน้ำหล่อเย็นและจากห้องปฏิบัติการ

| อายุไฮยาโนแบคทีเรีย (สัปดาห์) | ปริมาณผงไฮยาโนแบคทีเรีย (กรัม) | ข้อมูลการเปรียบเทียบ   |
|-------------------------------|--------------------------------|--|
| 1                             | 0.20                           | อนุภาคนาโนทองที่ได้จากไฮยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็น มีลักษณะเป็นทรงกลมรีแตกต่างจากอนุภาคนาโนทองจากไฮยาโนแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการ ที่ได้อนุภาคส่วนใหญ่เป็นทรงกลม มีขนาดใกล้เคียงกันและมีปริมาณมากกว่า   |
|                               | 0.25                           | อนุภาคนาโนทองมีทั้งเป็นทรงกลมและแบบไม่เป็นรูปทรง ทั้งจากไฮยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็นและในห้องปฏิบัติการ โดยมีขนาดใกล้เคียงกัน แต่อนุภาคนาโนทองจากไฮยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็นส่วนใหญ่มีลักษณะแบบไม่มีรูปทรงมากกว่าทรงกลมในขณะที่อนุภาคนาโนทองจากห้องปฏิบัติการ อนุภาคที่เป็นทรงกลมมีปริมาณใกล้เคียงกับอนุภาคที่ไม่มีรูปทรง       |
| 2                             | 0.15                           | อนุภาคนาโนทองที่พบจากไฮยาโนแบคทีเรียจากทั้ง 2 แหล่ง มีลักษณะเป็นทรงกลมเหมือนกัน มีปริมาณน้อย แต่อนุภาคนาโนทองจากไฮยาโนระบบน้ำหล่อเย็นมีขนาดใหญ่กว่า  |
|                               | 0.20                           | อนุภาคนาโนทองที่พบจากไฮยาโนแบคทีเรียจากทั้ง 2 แหล่ง มีลักษณะเป็นทรงกลมรีเหมือนกัน มีขนาดใกล้เคียงกัน และมีปริมาณน้อยเหมือนกัน  |
|                               | 0.25                           | อนุภาคนาโนทองจากไฮยาโนแบคทีเรียระบบน้ำหล่อเย็นมีลักษณะเป็นทรงกลมและไม่มีรูปทรง พบว่าอนุภาคทรงกลมมีปริมาณมากกว่าอนุภาคที่ไม่มีรูปทรง ส่วนอนุภาคนาโนทองจากไฮยาโนจากห้องปฏิบัติการพบลักษณะที่เป็นทรงกลมและสามเหลี่ยม และพบในปริมาณที่น้อยกว่าอนุภาคจากไฮยาโนแบคทีเรียระบบน้ำหล่อเย็น  |
|                               | 0.30                           | อนุภาคนาโนทองจากไฮยาโนแบคทีเรียระบบน้ำหล่อเย็นมีลักษณะเป็นทรงกลมและไม่มีรูปทรง พบว่าอนุภาคที่ไม่มีรูปทรงมีปริมาณมากกว่าทรงกลม ส่วนอนุภาคนาโนทองจากไฮยาโนแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการมีลักษณะเป็นทรงกลมและพบทรงสามเหลี่ยมบ้าง และพบว่าปริมาณอนุภาคนาโนทองจากไฮยาโนแบคทีเรียระบบน้ำหล่อเย็นมีปริมาณมากกว่าจากไฮยาโนแบคทีเรียจากห้องปฏิบัติการ |

| อายุไซยาโนแบคทีเรีย (สัปดาห์) | ปริมาณผงไซยาโนแบคทีเรีย (กรัม) | ข้อมูลการเปรียบเทียบ  |
|-------------------------------|--------------------------------|---|
| 3                             | 0.20                           | อนุภาคนาโนทองจากไซยาโนแบคทีเรียระบบน้ำหล่อเย็นมีลักษณะเป็นทรงกลม ทรงสามเหลี่ยม ในขณะที่อนุภาคจากไซยาโนแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นทรงกลมและพบทรงสามเหลี่ยมบ้าง และพบว่าอนุภาคนาโนทองจากไซยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็นโดยรวมมีขนาดใหญ่และมีปริมาณมากกว่าอนุภาคนาโนทองจากไซยาโนแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการ |
|                               | 0.25                           | อนุภาคนาโนทองจากไซยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็นส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นทรงกลมและพบลักษณะที่เป็นสามเหลี่ยมบ้าง ซึ่งอนุภาคมีรูปร่างและขนาดใกล้เคียงกับอนุภาคนาโนทองที่ได้จากไซยาโนแบคทีเรียจากห้องปฏิบัติการ แต่มีปริมาณมากกว่า  |
|                               | 0.30                           | อนุภาคนาโนทองจากไซยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็นมีลักษณะเป็นทรงกลม ขนาดเล็ก และมีปริมาณมาก ในขณะที่อนุภาคนาโนทองจากไซยาโนแบคทีเรียจากห้องปฏิบัติการมีลักษณะเป็นทรงกลม และทรงสามเหลี่ยม แต่มีขนาดใหญ่กว่าอนุภาคนาโนทองจากไซยาโนแบคทีเรียจากระบบน้ำหล่อเย็น   |

จากผลการทดลองดังกล่าว ตารางที่ 4.8-4.18 พบว่าลักษณะรูปร่างอนุภาคนาโนทองที่ได้แตกต่างกันนั้นอาจมาจากสภาวะการเจริญของไซยาโนแบคทีเรีย เพราะไซยาโนแบคทีเรียที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการได้รับสารอาหารแร่ธาตุที่จำเป็นและปริมาณแสงที่เพียงพอ จึงทำให้มีการเจริญกระบวนการภายในเซลล์ที่ปกติ ในขณะที่ไซยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็นในโรงงานอาจได้รับสารอาหารหรือแร่ธาตุน้อยกว่า น้ำในระบบน้ำหล่อเย็นของโรงงานเป็นน้ำที่มีอุณหภูมิสูงกว่าปกติ อีกทั้งยังมีการเจริญร่วมกับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นๆ จึงทำให้ทั้งกระบวนการสร้างสารภายในเซลล์ ชนิดของสาร และปริมาณของสารภายในเซลล์แตกต่างจากไซยาโนแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการ ดังนั้นจึงส่งผลให้บางสภาวะการทดลอง อนุภาคนาโนทองที่ได้จากการรีดิวซ์ด้วยไซยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็น และจากห้องปฏิบัติการได้ผลที่ต่างกัน โดยเฉพาะในไซยาโนแบคทีเรียที่มีอายุและปริมาณผงไซยาโนแบคทีเรียในการทดลองมากขึ้น พบว่าไซยาโนแบคทีเรียอายุ 3 สัปดาห์ ปริมาณ 0.30 กรัม อนุภาคนาโนทองจากไซยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็นมีขนาดที่ใกล้เคียงกันและมีปริมาณมากกว่าอนุภาคนาโนทองจากไซยาโนแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการ ในขณะที่อายุและปริมาณผงไซยาโน

แบคทีเรียน้อย พบว่าอนุภาคนาโนทองที่ได้จากไซยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็นและในห้องปฏิบัติการมีขนาดและรูปร่างที่ใกล้เคียงกัน



## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการวิจัย

5.1.1 ผลการวิเคราะห์สายพันธุ์ไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์หลักที่เจริญในระบบน้ำหล่อเย็นมีความใกล้เคียงกับสายพันธุ์ *Microcoleus chthonoplastes*

5.1.2 การศึกษาเวลาในการเกิดอนุภาคนาโนทองจากผงไซยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็นที่มีอายุ 3 สัปดาห์ ปริมาณ 0.30 กรัม อนุภาคเริ่มเกิดขึ้นที่เวลา 8 ชั่วโมงและใช้เวลา 16 ชั่วโมง อนุภาคนาโนทองจึงเริ่มมีปริมาณคงที่

5.1.3 การศึกษาปริมาณไซยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็นที่มีผลต่อขนาดและรูปร่างของอนุภาคนาโนทอง เมื่อเพิ่มปริมาณผงไซยาโนแบคทีเรียทำให้ได้อนุภาคนาโนทองที่มีลักษณะเป็นทรงกลมมีขนาดเล็กลง

5.1.4 การศึกษาผลของอายุไซยาโนแบคทีเรียที่มีต่อการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง พบว่าไซยาโนแบคทีเรียที่มีอายุ 3 สัปดาห์ ทำให้เกิดอนุภาคนาโนทองที่มีปริมาณมากกว่าอายุ 1 และ 2 สัปดาห์ และอนุภาคกระจายตัวจากกัน ไม่รวมตัวเป็นกลุ่มในทุกๆ กรณีการศึกษา

5.1.5 การเปรียบเทียบลักษณะอนุภาคนาโนทองที่ใช้ผงไซยาโนแบคทีเรียจากห้องปฏิบัติการและระบบน้ำหล่อเย็นในโรงงาน อนุภาคนาโนทองที่ได้มีลักษณะรูปร่างและขนาดใกล้เคียงกัน โดยแต่ละภาวะให้ผลที่แตกต่างกันเล็กน้อยซึ่งขึ้นอยู่กับความเหมาะสมในการนำอนุภาคนาโนทองไปประยุกต์ใช้ ไซยาโนแบคทีเรียในระบบน้ำหล่อเย็นในโรงงานเพาะเลี้ยงแบบไม่ใช้สารเคมี และโรงงานสยามฟริทต้องการกำจัดทิ้ง เมื่อนำมาใช้รีดิวซ์สารละลายทองให้กลายเป็นอนุภาคนาโนทองจึงเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่ม

#### 5.2 ข้อเสนอแนะ

ควรศึกษาอายุของสารละลายอนุภาคนาโนทองว่าสามารถเก็บได้นานเพียงใด ก่อนสารละลายจะตกตะกอน

## รายการอ้างอิง

- [1] Schrofel, A., et al., Applications of biosynthesized metallic nanoparticles - a review. **Acta Biomater**, 2014. 10(10): p. 4023-42.
- [2] Huang, D. and Li, Z., Method and apparatus for preparing powder carrying nano gold by thermal decomposition, in United States Patent Application Publication 2007: US.
- [3] Tien, D.-C., Chen, L.-C., Van Thai, N., and Ashraf, S., Study of Ag and Au Nanoparticles Synthesized by Arc Discharge in Deionized Water. **Journal of Nanomaterials**, 2010. 2010: p. 1-9.
- [4] Imam, H., Elsayed, K., Ahmed, M.A., and Ramdan, R., Effect of Experimental Parameters on the Fabrication of Gold Nanoparticles via Laser Ablation. **Optics and Photonics Journal**, 2012. 02(02): p. 73-84.
- [5] Parial, D., Patra, H.K., Roychoudhury, P., Dasgupta, A.K., and Pal, R., Gold nanorod production by cyanobacteria—a green chemistry approach. **Journal of Applied Phycology**, 2012. 24(1): p. 55-60.
- [6] Xie, J., Lee, J.Y., Wang, D.I., and Ting, Y.P., Identification of active biomolecules in the high-yield synthesis of single-crystalline gold nanoplates in algal solutions. **Small**, 2007. 3(4): p. 672-82.
- [7] He, S., et al., Biological Synthesis of Gold Nanowires Using Extract of *Rhodospseudomonas capsulata*. **Biotechnol. Prog**, 2008. 24: p. 476-480.
- [8] Narayanan, K.B. and Sakthivel, N., Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes. **Adv Colloid Interface Sci**, 2010. 156(1-2): p. 1-13.
- [9] Parial, D. and Pal, R., Green synthesis of gold nanoparticles using cyanobacteria and their characterization. **Indian Journal of Applied Research**, 2014. 4(1): p. 69-72.
- [10] Mishra, A., Tripathy, S.K., and Yun, S.-I., Fungus mediated synthesis of gold nanoparticles and their conjugation with genomic DNA isolated from *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Process Biochemistry**, 2012. 47(5): p. 701-711.



- [11] Chandran, S.P., Chaudhary, M., Pasricha, R., Ahmad, A., and Sastry, M., Synthesis of Gold Nanotriangles and Silver Nanoparticles Using Aloe vera Plant Extract. **Biotechnol. Prog.**, 2006. 22: p. 577–583.
- [12] Christophersen, D., Microbiological control strategy in cooling tower systems. **Veolia water solution & technologies**, 2006. 19: p. 1-4.
- [13] General Electric Company. Chapter 26 - Microbiological Control-Cooling System. 2012; Available from: [http://www.gewater.com/handbook/cooling\\_water\\_systems/ch\\_26\\_microbiological.jsp](http://www.gewater.com/handbook/cooling_water_systems/ch_26_microbiological.jsp).
- [14] พีรพรพิศาล, ย., สาขาวิชาวิทยา Phycology. 2006, เชียงใหม่: โชนาพรีนธ์.
- [15] Mur, L.R., Skulberg, O.M., and Utkilen, H., Toxic Cyanobacteria in Water: A guide to their public health consequences, monitoring and management 1999.
- [16] Eustis, S. and El-Sayed, M.A., Why gold nanoparticles are more precious than pretty gold: Noble metal surface plasmon resonance and its enhancement of the radiative and nonradiative properties of nanocrystals of different shapes. **The Royal Society of Chemistry**, 2006. 35: p. 209-217.
- [17] Alanazi, F.K., Radwan, A.A., and Alsarra, I.A., Biopharmaceutical applications of nanogold. **Saudi Pharm J**, 2010. 18(4): p. 179-93.
- [18] El-Sayed, M.A., Some Interesting Properties of Metals Confined in Time and Nanometer Space of Different Shapes. **American Chemical Society** 2001. 34: p. 257-264.
- [19] Hammond, J.L., Bhalla, N., Rafiee, S.D., and Estrela, P., Localized surface plasmon resonance as a biosensing platform for developing countries. **Biosensors (Basel)**, 2014. 4(2): p. 172-88.
- [20] Daniel, M.C. and Astruc, D., Gold Nanoparticles: Assembly, Supramolecular Chemistry, Quantum-Size-Related Properties, and Applications toward Biology, Catalysis, and Nanotechnology. **Chem. Rev.**, 2004. 104: p. 293-346.
- [21] Bahadur K.C, R., Thapa, B., and Bhattarai, N., Gold nanoparticle-based gene delivery: promises and challenges. **Nanotechnology Reviews**, 2014. 3(3).

- [22] Colegio Americano de san Carlos SC. Chemistry of nanoscale materials. 2013; Available from: <http://www.slideshare.net/tango67/nanomateriales-17839251>.
- [23] Mata, Y.N., et al., Gold(III) biosorption and bioreduction with the brown alga *Fucus vesiculosus*. **J Hazard Mater**, 2009. 166(2-3): p. 612-8.
- [24] Chakraborty, N., et al., Biorecovery of gold using cyanobacteria and an eukaryotic alga with special reference to nanogold formation – a novel phenomenon. **Journal of Applied Phycology**, 2008. 21(1): p. 145-152.
- [25] Focsan, M., Ardelean, Il, Craciun, C., and Astilean, S., Interplay between gold nanoparticle biosynthesis and metabolic activity of cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. **Nanotechnology**, 2011. 22(48): p. 485101.
- [26] Sharma, B., et al., Biosynthesis of gold nanoparticles using a freshwater green alga, *Prasiola crista*. **Materials Letters**, 2014. 116: p. 94-97.
- [27] Singaravelu, G., Arockiamary, J.S., Kumar, V.G., and Govindaraju, K., A novel extracellular synthesis of monodisperse gold nanoparticles using marine alga, *Sargassum wightii* Greville. **Colloids Surf B Biointerfaces**, 2007. 57(1): p. 97-101.
- [28] Roychoudhury, P. and Pal, R., *Spirogyra submaxima*-a green alga for nanogold production. **Journal of algal biomass utilization**, 2014. 5(1): p. 15-19.
- [29] หนูพันธ์, พ. and ชัยชนะ, ร., ผลกระทบของไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ต่อการเกิดยูโทรฟิเคชันในแหล่งน้ำและการกำจัดไนโตรเจนและฟอสฟอรัส. **วิศวกรรมสาร มก** 2014. 88(27): p. 57-67.
- [30] Margulis, L. and Schwartz, K.V., Five Kingdoms. An Illustrated Guide to the Phylla of Life on Earth. Vol. 49. 1998, New York: W.H. Freeman.
- [31] ศรีเปล่ง, อ., สาขาวิชาชีววิทยา. 1. 1984, กรุงเทพฯ: ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ.
- [32] Das, N., Vimala, R., and Karthika, P., Biosorption of heavy metals-An overview. **Indian Journal of Biotechnology**, 2008. 7: p. 159-169.
- [33] Lengke, M.F., Fleet, M.E., and Southam, G., Morphology of gold nanoparticles synthesized by filamentous cyanobacteria from gold(i)-thiosulfate and gold(iii)-chloride complexes. **Langmuir**, 2006. 22: p. 2780-2787.

- [34] Salem, A.K., Searson, P.C., and Leong, K.W., Multifunctional nanorods for gene delivery. **Nat. Mater**, 2003. 2(10): p. 668–671.
- [35] Tiwari, P.M., Vig, K., Dennis, V.A., and Singh, S.R., Functionalized Gold Nanoparticles and Their Biomedical Applications. **Nanomaterials** 2011. 1: p. 31-63.
- [36] Dreaden, E.C., Austin, L.A., Mackey, M.A., and El-Sayed, M.A., Size matters: gold nanoparticles in targeted cancer drug delivery. **Ther Deliv**, 2012. 3(4): p. 457–478.
- [37] Shipway, A.N., Katz, E., and Willner, I., Nanoparticle arrays on surfaces for electronic, optical, and sensor applications. **Chemphyschem** 2000. 1: p. 18-52.
- [38] Uma Suganya, K.S., et al., Blue green alga mediated synthesis of gold nanoparticles and its antibacterial efficacy against Gram positive organisms. **Materials Science and Engineering** 2015. 47: p. 351–356.
- [39] Deplanche, K. and Macaskie, L.E., Biorecovery of gold by *E. coli* and *desulfovibrio desulfuricans*. **Biotechnol. Bioeng** 2008. 99: p. 1055-1064.
- [40] He, S., et al., Biosynthesis of gold nanoparticles using the bacteria *Rhodospseudomonas capsulate*. **Mat. Lett** 2007. 61(18): p. 3984-3987.
- [41] Sastry, M., Ahmad, A., Khan, M.I., and Kumar, R., Biosynthesis of metal nanoparticles using fungi and actinomycetes. **Curr. Sci.**, 2003. 85: p. 162-170.
- [42] Ahmad, A., et al., Intracellular synthesis of gold nanoparticles by a novel alkalotolerant actinomycete, *Rhodococcus* species **Nanotechnology Reviews**, 2003. 14: p. 824-828.
- [43] Agnihotri, M., Joshi, S., Kumar, A.R., Zinjarde, S., and Kulkarni, S., Biosynthesis of gold nanoparticles by the tropical marine yeast *Yarrowia lipolytica* NCIM 3589. **Mater. Lett** 2009(63): p. 1231-1234.
- [44] Shivshankar, S., Ahmad, A., Pasricha, R., and Sastry, M., Bioreduction of chloroaurate ions by *Geranium* leaves and its endophytic fungus yields gold nanoparticles of different shapes. **J. Mater. Chem.** , 2003. 13: p. 1822-1826.

- [45] Mukherjee, P., et al., Fungus mediated synthesis of silver nanoparticles and their immobilization in the mycelial matrix : a novel biological approach to nanoparticles synthesis. **Nano Lett.** , 2001. 1: p. 515-519.
- [46] Nubel, U., Garcia-Pichel, F., and Muyzer, G., PCR Primers To Amplify 16S rRNA Genes from Cyanobacteria **Applied and Environmental Microbiology**, 1997. 63(8): p. 3327–3332.
- [47] Philip, D., Synthesis and spectroscopic characterization of gold nanoparticles **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy** 2008. 71(1): p. 80-85.
- [48] Kondinski, A.; Available from: kondinski.webs.com.
- [49] Henglein, A., Physicochemical Properties of Small Metal Particles in Solution: “Microelectrode” Reactions, Chemisorption, Composite Metal Particles, and the Atom-to-Metal Transition. **J. Phys. Chem.** , 1993. 97: p. 5457-5471.
- [50] Treguer-Delapierre, M., Majimel, J., Mornet, S., Duguet, E., and Ravaine, S., Synthesis of non-spherical gold nanoparticles. **Gold bulletin.**, 2008. 41(2): p. 195-207.
- [51] Chevrier, D.M., Chatt, A., and Zhang, P., Properties and applications of protein-stabilized fluorescent gold nanoclusters: short review. **Journal of Nanophotonics**, 2012. 6: p. 064504-1-064504-16.
- [52] Hu, J., Wang, Z., and Li, J., Gold Nanoparticles With Special Shapes: Controlled Synthesis, Surface-enhanced Raman Scattering, and The Application in Biodetection. **Sensors.**, 2007. 7: p. 3299-3311.
- [53] Khalil, M.M.H., Ismail, E.H., and El-Magdoub, F., Biosynthesis of Au nanoparticles using olive leaf extract. **Arabian Journal of Chemistry**, 2012. 5(4): p. 431-437.



ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

## ภาคผนวก

### 1 สูตรอาหารไฮยาโนแบคทีเรีย BG11

- สารละลาย Trace element

|  |         |
|--|---------|
| $\text{H}_3\text{BO}_3$                              | 2.8 g   |
| $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$            | 1.81 g  |
| $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$            | 0.22 g  |
| $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$            | 0.079 g |
| $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ | 0.049 g |

ละลายสารทั้งหมดในน้ำกลั่น 1 ลิตร

- สารละลาย BG11

|   |       |
|---|-------|
| $\text{NaNO}_3$                           | 1.5 g |
| $\text{K}_2\text{PO}_4$                   | 40 mg |
| $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 75 mg |
| $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  | 36 mg |
| $\text{Na}_2\text{CO}_3$                  | 20 mg |
| EDTA*2Na                                  | 1 mg  |
| Citric acid                               | 6 mg  |
| Ferric ammonium nitrate                   | 6 mg  |
| Trace element                             | 1 mL  |

ละลายสารทั้งหมดในน้ำกลั่น 1 ลิตร

## 2 ผลการวิเคราะห์ลำดับเบส DNA

หลังจากส่งวิเคราะห์ลำดับเบสนิวคลีโอไทด์ของ DNA ได้รับผลดังนี้

### 2.1 Primers สาย 106F781 และ 106F(1)

ATCCACAGCTAGACGGATACGCTCTGGGACGGGGGCTAATACCGGATAGGTCGAAAGATGAAA  
GGTAACTGCCGGAAGAGGAGCTCGCGTCTGATTAGCTATTAGGTGTGGTAAGAGCGCACCTAT  
GCGACGATCAGTAGCTGGTCTGAGAGGATGAGCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGA  
CTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATTTTCCGCATTGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAAGACC  
GCGCGGGGAGGAAGGCCTTTGGGTTGTAAACCCCTTTTGTAGGGAAGAAAAAATGACGGTA  
CCTAACGAATCACCTCGGCTAACTCCGTGCCACCAGCCGCGTAATACGGAGGAGGCAAGCG  
TTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGTCCGTTCGTGGCCCGCCAGTCTGCTGTCAAAGACCA  
CAGCTCATCTGTGGAAAGGCAGTGGAACTGCACGGCTAGAGTGCGGTAGGGGTAGAGGGAAT  
TCCCTCTGTACCGGTGAAATGCGTAAAGATTGGGAAGAACACCGGTGGCGAATGCGCTCTACTG  
CTCCGCACCTGACACTGATTGACCAACGCTACGGGAGCGAATGGGATTACATACCCCAGTATTC  
ACCCCTTAC

### 2.2 Primers สาย 106781R และ 781R(1)

GGCGTACGTAAGGCTTCGTCATCAGTGTGAGTTGCGGCCAGTAGAGCGCTTTCGCCACCGGTG  
TTCTTCCCAATCTCTACGCATTTACCGCTACACTGGGAATTCCTCTACCCCTACCGCACTCTA  
GCCTTGACAGTTTCCACTGCCTTTCCACAGTTGAGCTGTGGTCTTTGACAGCAGACTTGCCGGGC  
CACCTACGGACGCTTTACGCCAATAATTCCGGATAACGCTTGCCTCCTCCGTATTACCGCGGC  
TGCTGGCACGGAGTTAGCCGAGGCTGATTCGTTAGGTACCGTCATTTTTTTCTTCCCTAACAAA  
AGGGGTTTACAACCCAAAGGCCTTCTCCCCACGCGGTCTTGCTCCGTCAGGCTTTCGCCCAT  
TGCGGAAAATTCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAGTCCCAGTGTGGC  
TGCTCATCCTCTCAGACCAGCTACTGATCGTCGCTAGGTGCGCTCTTACCACACCTACTAGCT  
AATCAGACGCGAGCTCCTCTCAGGCAGTTAACCTTTTCATCTTTGACCTATCCGGTATTAGCC  
CCCGTTTCCAGGGTTATCCCCGACCTGAAGGTAGATTCTCACGCGTTACCCACCCGTCCGA

### 2.3 Primers สาย 359F781 และ 359F(2)

TTTCCGCTGTAGGGACACGCCGCGTGTGGGAGAGGCTCTTGGGCTGTCAACCACTTTTCTCAGG  
GAAGAAGTCCTGACGGTACCTGAGGAATCAGCCTCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTA  
ATACGGAGGAGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGTCCGCAGGGGGCGCATCA

AGTCTGCTGTTAAAGGTCGGAGCTCAACTCCGGTAGAGCAGTGGAACTGGTGCGCTAGAGGG  
 CGACAGGGGTAGAGGAATTCCAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAAAGATTGGGAAGAACACCG  
 GTGGCGAAAGCGCTCTACTGGGTCGCACCTGACCCTCAAGGACGAAAGCTAAGGTAGCGAAAG  
 GGATTAATACCCCTGTAGTCAA

#### 2.4 Primers สาย 359781R และ 781R(2)

TGCTCGTACACGAAGTCGCTGATGGGTCGAGGCTCTTGAGTTGTGCGCTCTTTTCTCGGGGAAG  
 AAGTCCTGACGGTACCTGAGGAATCAGCCTCGGCTAATTCCGTGTAAGCCTGCGCGGTAATACG  
 GAGGAGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTTGACGTAAAACCTTTGACAGGGGACTTGATGGTCCG  
 CCTGCGAACGCTTTACCCCACTAATTCCGGATAACGCTAGCCGCCGCCCTATTACCGCGCCTG  
 CTGACACGGAATTCCCCGAGGCTGATTCCTCAGGTACCGTATTGACATCAACACCTTAAAAAAA  
 AGGCTGTCTACTGGATAGCCTTTGACCCTCACGGAGCAATGCTCCGGCAGGCTTTGCGCCATTG  
 CCCCCAATTCCCCA

### 3 ผลการเปรียบเทียบข้อมูล ผลิตภัณฑ์ PCR กับ ฐานข้อมูล GenBank

โดยใช้โปรแกรม BLASTn

#### 1. DNA สาย (106F781)106F(1)

ตารางที่ ก 1 แสดงผลของสายพันธุ์หรือส่วนที่มี DNA คล้ายกับผลิตภัณฑ์ PCR ตัวอย่าง จาก  
 ผลิตภัณฑ์ PCR สาย (106F781)106F(1)

| Description  | Max score | Total score | Query cover | E value | Ident | Accession  |
|--|-----------|-------------|-------------|---------|-------|------------|
| Desertifilum tharense A 16S ribosomal RNA gene, partial sequence           | 983       | 983         | 93%         | 0       | 96%   | KR269853.1 |
| Desertifilum tharense PD2001/TDC4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 983       | 983         | 93%         | 0       | 96%   | FJ158994.1 |
| Oscillatoria tenuis dpm27 16S ribosomal RNA gene, partial sequence         | 977       | 977         | 93%         | 0       | 96%   | JQ256480.1 |
| Phormidium animale dr727 16S ribosomal RNA gene, partial sequence          | 977       | 977         | 93%         | 0       | 96%   | JQ256479.1 |



| Description   | Max score | Total score | Query cover | E value | Ident | Accession  |
|---|-----------|-------------|-------------|---------|-------|------------|
| Phormidium animale ZDc 16S ribosomal RNA gene, partial sequence   | 977       | 977         | 93%         | 0       | 96%   | HQ916864.1 |
| Phormidium sp. ZDf 16S ribosomal RNA gene, partial sequence   | 977       | 977         | 93%         | 0       | 96%   | HQ916860.1 |
| Desertifilum sp. NapGTcm17 16S ribosomal RNA gene and 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer, partial sequence | 976       | 976         | 93%         | 0       | 96%   | KM438193.1 |
| Oscillatoria tenuis NTRI20 16S ribosomal RNA gene, partial sequence   | 942       | 942         | 94%         | 0       | 94%   | KP030747.1 |
| Oscillatoria tenuis M4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence   | 935       | 935         | 90%         | 0       | 95%   | KC768845.1 |
| Lyngbya birgei CCC 333 16S ribosomal RNA gene, partial sequence   | 933       | 933         | 93%         | 0       | 95%   | EU586053.1 |
| Phormidium animale M8 16S ribosomal RNA gene, partial sequence  | 931       | 931         | 93%         | 0       | 95%   | KC768847.1 |
| Uncultured Desertifilum sp. clone C3_B2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence                                | 922       | 922         | 93%         | 0       | 94%   | JX575081.1 |
| Desertifilum fontinale KR2012/2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence  | 917       | 917         | 93%         | 0       | 94%   | KJ028038.1 |
| Microcoleus sp. 15 16S ribosomal RNA gene, partial sequence   | 917       | 917         | 85%         | 0       | 97%   | KJ801561.1 |
| Phormidium animale NTMP03 16S ribosomal RNA gene, partial sequence  | 911       | 911         | 87%         | 0       | 96%   | GU812859.1 |
| Oscillatoria tenuis NTAS 06 16S ribosomal RNA gene, partial sequence  | 907       | 907         | 87%         | 0       | 96%   | KF516015.1 |

| Description   | Max score | Total score | Query cover | E value | Ident | Accession  |
|---|-----------|-------------|-------------|---------|-------|------------|
| Desertifilum sp. RBD02 16S ribosomal RNA gene, partial sequence   | 905       | 905         | 93%         | 0       | 94%   | KT445937.1 |
| Oscillatoria sp. 50A 16S ribosomal RNA gene, partial sequence   | 905       | 905         | 86%         | 0       | 96%   | KJ868775.1 |
| Phormidium animale PMC239.04 partial 16S rRNA gene, strain PMC239.04  | 905       | 905         | 85%         | 0       | 96%   | AJ850919.1 |
| Uncultured Phormidium sp. clone C7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence   | 891       | 891         | 83%         | 0       | 96%   | HQ241497.1 |
| Arthrospira sp. CCC 538 16S ribosomal RNA gene, partial sequence  | 874       | 874         | 85%         | 0       | 95%   | EU586050.1 |
| Phormidium sp. CCC No.604 16S ribosomal RNA gene, partial sequence  | 835       | 835         | 93%         | 0       | 92%   | JN099805.1 |
| Schizothrix sp. NGB51 16S ribosomal RNA gene, partial sequence  | 809       | 809         | 93%         | 0       | 91%   | KC999643.1 |
| Microcoleus chthonoplastes CCY0602 16S ribosomal RNA gene, partial sequence   | 809       | 809         | 92%         | 0       | 91%   | GQ402018.1 |
| Oscillatoria tenuis SERB 8 16S ribosomal RNA gene, 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer gene, and 23S ribosomal RNA gene, region | 806       | 806         | 93%         | 0       | 91%   | KM982557.1 |
| Oscillatoria tenuis EcFYyy_300 16S ribosomal RNA gene, partial sequence   | 806       | 806         | 93%         | 0       | 91%   | KC463202.1 |
| Schizothrix sp. NGB104 16S ribosomal RNA gene, partial sequence   | 802       | 802         | 92%         | 0       | 91%   | KC999641.1 |

| Description  | Max score | Total score | Query cover | E value | Ident | Accession  |
|--|-----------|-------------|-------------|---------|-------|------------|
| Schizothrix sp. COL110 16S ribosomal RNA gene, partial sequence                      | 795       | 795         | 91%         | 0       | 91%   | KC999642.1 |
| Oscillatoria sp. MPI 990BR03 16S ribosomal RNA gene, partial sequence                | 787       | 787         | 90%         | 0       | 91%   | AF284810.1 |
| Oscillatoria spongeliae 310P1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence               | 778       | 778         | 92%         | 0       | 90%   | AY615504.1 |
| Schizothrix sp. NGB53 16S ribosomal RNA gene, partial sequence                       | 776       | 776         | 86%         | 0       | 92%   | KC999644.1 |
| Uncultured bacterium clone BBD-Dec07-3BB-19 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 767       | 767         | 88%         | 0       | 91%   | GQ215222.1 |
| Schizothrix sp. NGB45 16S ribosomal RNA gene, partial sequence                       | 765       | 765         | 84%         | 0       | 92%   | KC999645.1 |
| Oscillatoria spongeliae 520bg 16S ribosomal RNA gene, partial sequence               | 763       | 763         | 88%         | 0       | 91%   | AF420444.1 |
| Uncultured bacterium clone LAM17 16S ribosomal RNA gene, partial sequence            | 760       | 760         | 92%         | 0       | 90%   | KJ007878.1 |
| Uncultured bacterium clone LAM47 16S ribosomal RNA gene, partial sequence            | 760       | 760         | 92%         | 0       | 90%   | KJ007871.1 |
| Uncultured Oscillatoria sp. clone Gwada1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence    | 756       | 756         | 92%         | 0       | 89%   | KC407689.1 |
| Oscillatoria spongeliae isolate 504bg 16S ribosomal RNA gene, partial sequence       | 756       | 756         | 88%         | 0       | 90%   | AF534688.1 |

| Description   | Max score | Total score | Query cover | E value | Ident | Accession  |
|---|-----------|-------------|-------------|---------|-------|------------|
| Oscillatoria spongelliae isolate 517bg 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 756       | 756         | 88%         | 0       | 90%   | AF534687.1 |
| Oscillatoria spongelliae 34P8 16S ribosomal RNA gene, partial sequence          | 756       | 756         | 88%         | 0       | 90%   | AY615507.1 |
| Oscillatoria spongelliae isolate 516bg 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 752       | 752         | 88%         | 0       | 90%   | AF534685.1 |
| Oscillatoria spongelliae SI04-46 16S ribosomal RNA gene, partial sequence       | 750       | 750         | 92%         | 0       | 89%   | EF537061.1 |
| Oscillatoria spongelliae SI04-41 16S ribosomal RNA gene, partial sequence       | 750       | 750         | 92%         | 0       | 89%   | EF537058.1 |
| Oscillatoria spongelliae SI04-40 16S ribosomal RNA gene, partial sequence       | 750       | 750         | 92%         | 0       | 89%   | EF537057.1 |
| Oscillatoria spongelliae 518bg 16S ribosomal RNA gene, partial sequence         | 750       | 750         | 88%         | 0       | 90%   | AF420445.1 |
| Oscillatoria sp. SGBRA05 16S ribosomal RNA gene, partial sequence               | 749       | 749         | 92%         | 0       | 89%   | JQ083643.1 |
| Oscillatoria sp. Ck2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence                   | 749       | 749         | 92%         | 0       | 89%   | GQ131852.1 |
| Oscillatoria spongelliae 35P1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence          | 749       | 749         | 92%         | 0       | 89%   | AY615501.1 |

## 2. DNA สาย (106781R)781R(1)

ตารางที่ ก 2 แสดงผลของสายพันธุ์หรือส่วนที่มี DNA คล้ายกับผลิตภัณฑ์ PCR ตัวอย่าง จาก ผลิตภัณฑ์ PCR ตัวอย่าง สาย (106781R)781R(1)

| Description   | Max score | Total score | Query cover | E value | Ident | Accession  |
|---|-----------|-------------|-------------|---------|-------|------------|
| Oscillatoria tenuis dpm27 16S ribosomal RNA gene, partial sequence  | 1142      | 1142        | 97%         | 0       | 99%   | JQ256480.1 |
| Phormidium animale dr727 16S ribosomal RNA gene, partial sequence   | 1142      | 1142        | 97%         | 0       | 99%   | JQ256479.1 |
| Phormidium sp. ZDf 16S ribosomal RNA gene, partial sequence   | 1142      | 1142        | 97%         | 0       | 99%   | HQ916860.1 |
| Desertifilum tharense A 16S ribosomal RNA gene, partial sequence  | 1136      | 1136        | 97%         | 0       | 99%   | KR269853.1 |
| Phormidium animale M8 16S ribosomal RNA gene, partial sequence  | 1136      | 1136        | 97%         | 0       | 99%   | KC768847.1 |
| Oscillatoria tenuis M4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence   | 1133      | 1133        | 96%         | 0       | 99%   | KC768845.1 |
| Desertifilum sp. NapGTcm17 16S ribosomal RNA gene and 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer, partial sequence | 1131      | 1131        | 97%         | 0       | 99%   | KM438193.1 |
| Phormidium animale ZDc 16S ribosomal RNA gene, partial sequence   | 1129      | 1129        | 97%         | 0       | 99%   | HQ916864.1 |
| Phormidium animale NTMP03 16S ribosomal RNA gene, partial sequence  | 1125      | 1125        | 98%         | 0       | 99%   | GU812859.1 |
| Microcoleus sp. 15 16S ribosomal RNA gene, partial sequence   | 1114      | 1114        | 95%         | 0       | 99%   | KJ801561.1 |
| Phormidium animale PMC239.04 partial 16S rRNA gene, strain PMC239.04  | 1114      | 1114        | 95%         | 0       | 99%   | AJ850919.1 |

| Description  | Max score | Total score | Query cover | E value | Ident | Accession  |
|--|-----------|-------------|-------------|---------|-------|------------|
| Lyngbya birgei CCC 333 16S ribosomal RNA gene, partial sequence                  | 1103      | 1103        | 97%         | 0       | 99%   | EU586053.1 |
| Desertifilum tharense PD2001/TDC4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence       | 1096      | 1096        | 93%         | 0       | 99%   | FJ158994.1 |
| Oscillatoria tenuis NTAS 06 16S ribosomal RNA gene, partial sequence             | 1092      | 1092        | 94%         | 0       | 99%   | KF516015.1 |
| Uncultured Phormidium sp. clone C7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence      | 1083      | 1083        | 93%         | 0       | 99%   | HQ241497.1 |
| Oscillatoria sp. 50A 16S ribosomal RNA gene, partial sequence                    | 1075      | 1075        | 93%         | 0       | 99%   | KJ868775.1 |
| Desertifilum sp. RBD02 16S ribosomal RNA gene, partial sequence                  | 1061      | 1061        | 97%         | 0       | 97%   | KT445937.1 |
| Desertifilum fontinale KR2012/2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence         | 1035      | 1035        | 93%         | 0       | 98%   | KJ028038.1 |
| Uncultured Desertifilum sp. clone C3_B2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 1035      | 1035        | 93%         | 0       | 98%   | JX575081.1 |
| Oscillatoria tenuis NTRI20 16S ribosomal RNA gene, partial sequence              | 1003      | 1003        | 93%         | 0       | 97%   | KP030747.1 |
| Schizothrix sp. NGB51 16S ribosomal RNA gene, partial sequence                   | 976       | 976         | 97%         | 0       | 95%   | KC999643.1 |
| Schizothrix sp. NGB53 16S ribosomal RNA gene, partial sequence                   | 974       | 974         | 96%         | 0       | 95%   | KC999644.1 |
| Phormidium sp. CCC No.604 16S ribosomal RNA gene, partial sequence               | 966       | 966         | 96%         | 0       | 95%   | JN099805.1 |

| Description   | Max score | Total score | Query cover | E value | Ident | Accession  |
|---|-----------|-------------|-------------|---------|-------|------------|
| Schizothrix sp. COL110 16S ribosomal RNA gene, partial sequence   | 965       | 965         | 97%         | 0       | 95%   | KC999642.1 |
| Schizothrix sp. NGB104 16S ribosomal RNA gene, partial sequence   | 965       | 965         | 97%         | 0       | 95%   | KC999641.1 |
| Microcoleus chthonoplastes CCY0602 16S ribosomal RNA gene, partial sequence   | 965       | 965         | 97%         | 0       | 94%   | GQ402018.1 |
| Oscillatoria tenuis SERB 8 16S ribosomal RNA gene, 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer gene, and 23S ribosomal RNA gene | 959       | 959         | 97%         | 0       | 94%   | KM982557.1 |
| Oscillatoria tenuis EcFYyy_300 16S ribosomal RNA gene, partial sequence   | 959       | 959         | 97%         | 0       | 94%   | KC463202.1 |
| Arthrospira sp. CCC 538 16S ribosomal RNA gene, partial sequence  | 957       | 957         | 87%         | 0       | 97%   | EU586050.1 |
| Schizothrix sp. NGB45 16S ribosomal RNA gene, partial sequence  | 953       | 953         | 94%         | 0       | 95%   | KC999645.1 |
| Oscillatoria sp. MPI 990BR03 16S ribosomal RNA gene, partial sequence   | 928       | 928         | 92%         | 0       | 95%   | AF284810.1 |
| Oscillatoria spongeliae 310P1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence  | 904       | 904         | 97%         | 0       | 93%   | AY615504.1 |
| Uncultured bacterium clone LAM17 16S ribosomal RNA gene, partial sequence   | 887       | 887         | 97%         | 0       | 92%   | KJ007878.1 |
| Uncultured bacterium clone LAM47 16S ribosomal RNA gene, partial sequence   | 887       | 887         | 97%         | 0       | 92%   | KJ007871.1 |

| Description  | Max score | Total score | Query cover | E value | Ident | Accession  |
|--|-----------|-------------|-------------|---------|-------|------------|
| Uncultured bacterium clone BBD-Dec07-3BB-19 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 881       | 881         | 97%         | 0       | 92%   | GQ215222.1 |
| Oscillatoria tenuis EucYyy1100 16S ribosomal RNA gene, partial sequence              | 876       | 876         | 88%         | 0       | 95%   | KC463218.1 |
| Oscillatoria sp. SGBRA05 16S ribosomal RNA gene, partial sequence                    | 876       | 876         | 97%         | 0       | 92%   | JQ083643.1 |
| Oscillatoria sp. Ck2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence                        | 876       | 876         | 97%         | 0       | 92%   | GQ131852.1 |
| Oscillatoria spongelliae SI04-46 16S ribosomal RNA gene, partial sequence            | 876       | 876         | 97%         | 0       | 92%   | EF537061.1 |
| Oscillatoria spongelliae SI04-40 16S ribosomal RNA gene, partial sequence            | 876       | 876         | 97%         | 0       | 92%   | EF537057.1 |
| Oscillatoria spongelliae 34P8 16S ribosomal RNA gene, partial sequence               | 876       | 876         | 97%         | 0       | 92%   | AY615507.1 |
| Oscillatoria spongelliae 35P1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence               | 876       | 876         | 97%         | 0       | 92%   | AY615501.1 |
| Oscillatoria spongelliae SI04-41 16S ribosomal RNA gene, partial sequence            | 872       | 872         | 97%         | 0       | 92%   | EF537058.1 |
| Uncultured cyanobacterium clone OTUC11 16S ribosomal RNA gene, partial sequence      | 870       | 870         | 97%         | 0       | 92%   | KC262682.1 |
| Oscillatoria spongelliae KR04-4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence             | 870       | 870         | 97%         | 0       | 92%   | EF537056.1 |
| Oscillatoria spongelliae KR04-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence             | 870       | 870         | 97%         | 0       | 92%   | EF537054.1 |
| Nostoc sp. HKAR-6 16S ribosomal RNA gene, partial sequence                           | 865       | 865         | 97%         | 0       | 92%   | KF751605.1 |



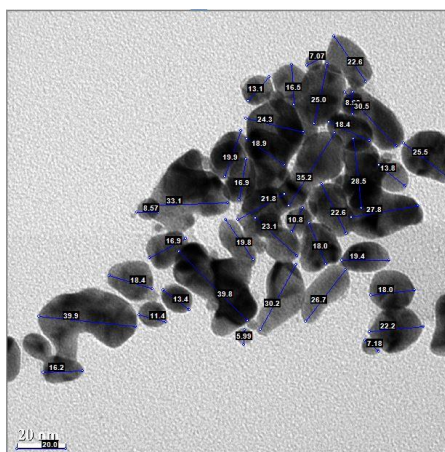
| Description  | Max score | Total score | Query cover | E value | Ident | Accession  |
|--|-----------|-------------|-------------|---------|-------|------------|
| Oscillatoria spongeliae SI04-47 16S ribosomal RNA gene, partial sequence     | 865       | 865         | 97%         | 0       | 92%   | EF537062.1 |
| Oscillatoria spongeliae SI04-45 16S ribosomal RNA gene, partial sequence     | 865       | 865         | 97%         | 0       | 92%   | EF537060.1 |
| Uncultured bacterium clone CI5cm.45 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 865       | 865         | 97%         | 0       | 92%   | EF208676.1 |

#### 4. สูตรการคำนวณ การหาการกระจายตัวของอนุภาค

ใช้โปรแกรม Microsoft Excel โดยการใส่ข้อมูลขนาดอนุภาคทั้งหมดที่วัดได้ของ 1 ตัวอย่าง

- ใช้ฟังก์ชัน AVERAGE(Number1, Number2,...) เพื่อหาขนาดอนุภาคเฉลี่ย
- ใช้ฟังก์ชัน MAX(Number1, Number2,...) และ MIN(Number1, Number2,...) เพื่อหาค่าขนาดสูงสุดและต่ำสุดของอนุภาค
- ใช้ฟังก์ชัน COUNTIF(range,criteria) เพื่อหาจำนวนอนุภาคที่มีขนาดอยู่ในช่วงต่างๆ เช่น หาอนุภาคที่มีขนาด 20-25 nm. ใช้ฟังก์ชัน COUNTIF(range,criteria1)-COUNTIF(range,criteria2) โดย criteria1 คือ ">20" และ criteria2 คือ ">25"

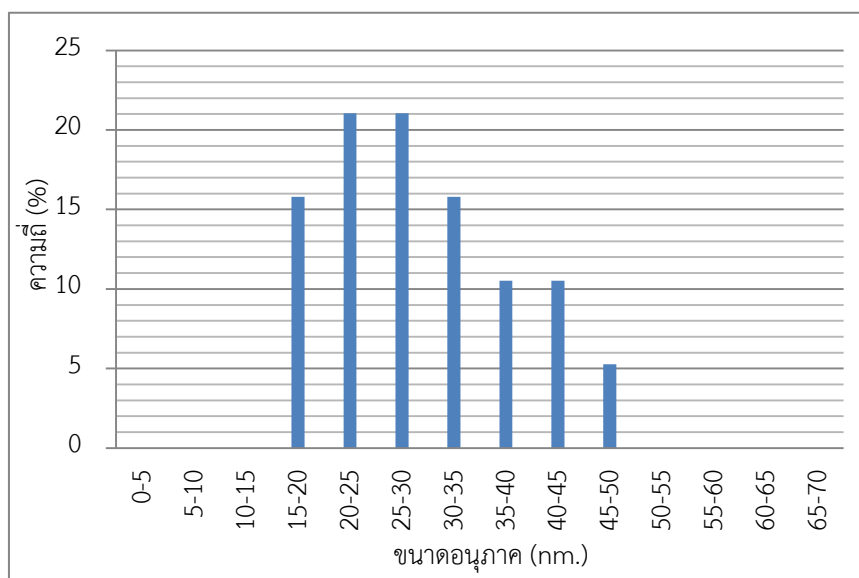
#### 5. รูปแสดงตัวอย่างการวัดขนาดด้วยโปรแกรม SemAfore 5.21



รูปที่ ก 1 ตัวอย่างการวัดขนาดอนุภาคจากภาพ TEM ด้วยโปรแกรม SemAfore 5.21

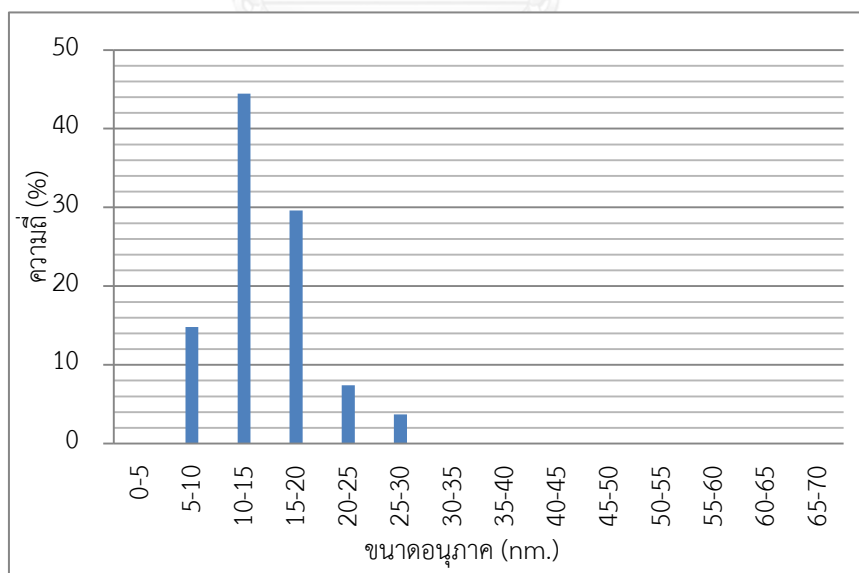
## 6. กราฟแสดงการกระจายตัวของอนุภาค

1 อนุภาคนาโนทองที่ได้จากไซยาโนแบคทีเรียจากระบบน้ำหล่อเย็น ที่มีอายุ 1 สัปดาห์

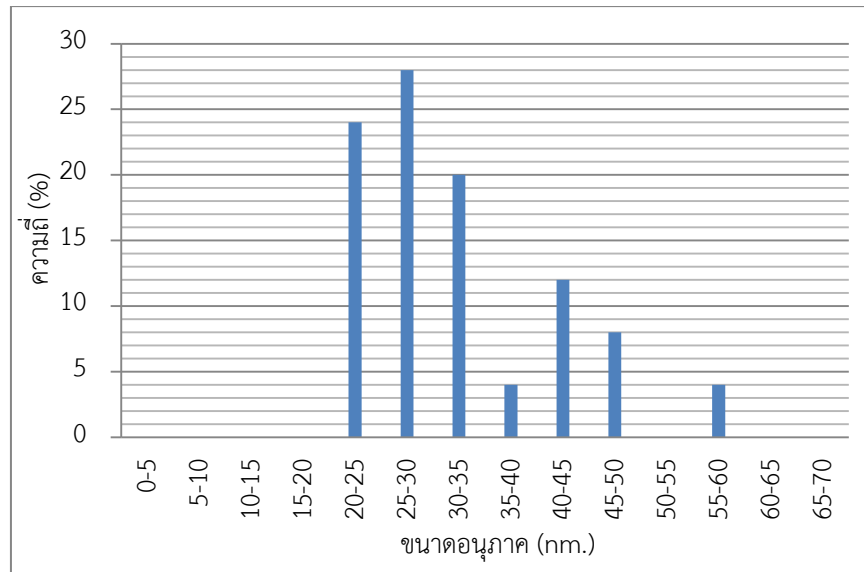


รูปที่ ก 2 กราฟแสดงการกระจายตัวของอนุภาคนาโนทองที่มีลักษณะแบบไม่มีรูปทรง จากการใช้ไซยาโนแบคทีเรียปริมาณ 0.25 กรัม

2 อนุภาคนาโนทองที่ได้จากไซยาโนแบคทีเรียจากห้องปฏิบัติการ ที่มีอายุ 1 สัปดาห์

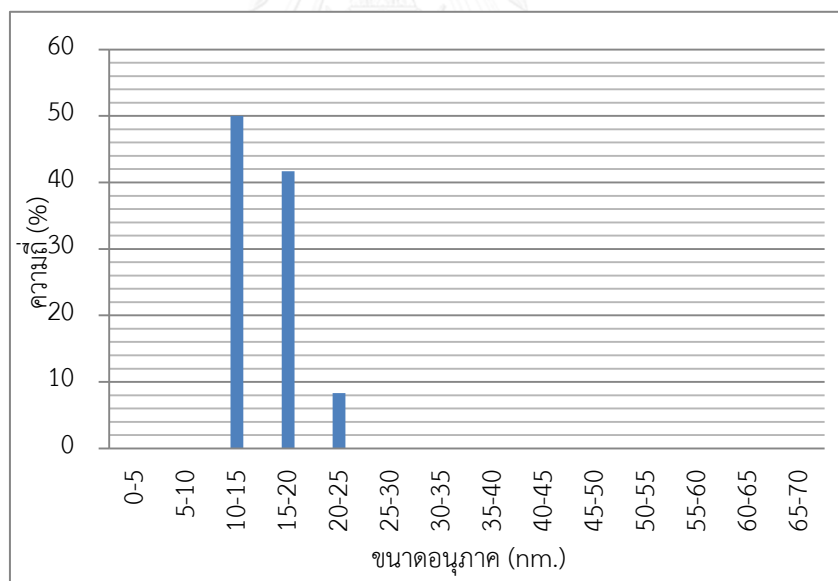


รูปที่ ก 3 กราฟแสดงการกระจายตัวของอนุภาคนาโนทองทรงกลม จากการใช้ไซยาโนแบคทีเรียปริมาณ 0.25 กรัม

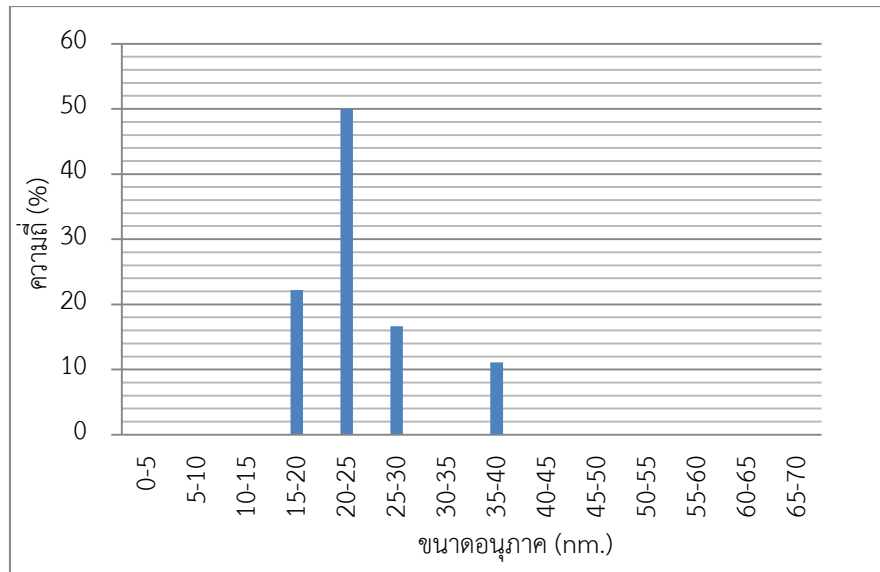


รูปที่ ก 4 กราฟแสดงการกระจายตัวของอนุภาคนาโนทรงแปดเหลี่ยมแบบไม่มีรูปทรง จากการใช้ไซยาโนแบคทีเรียปริมาณ 0.25 กรัม

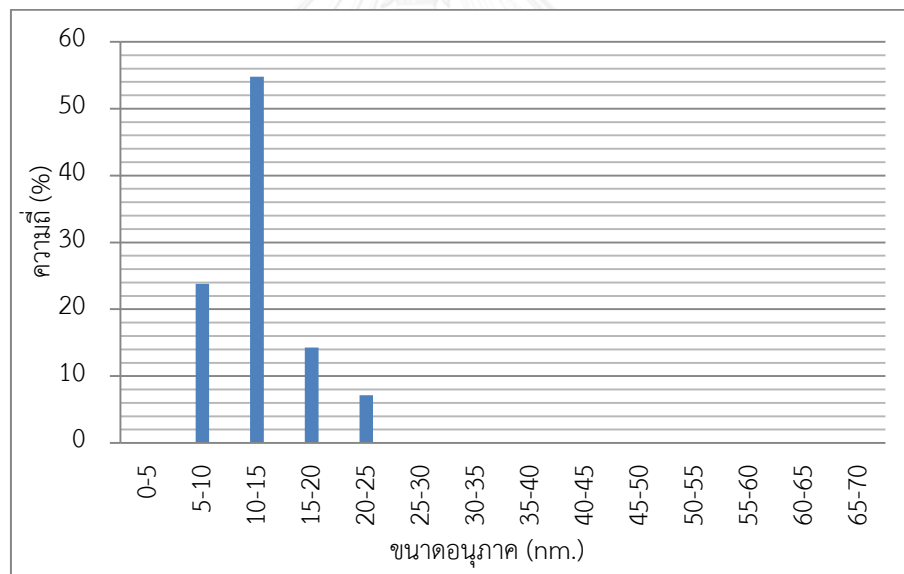
3 อนุภาคนาโนทรงแปดเหลี่ยมที่ได้จากไซยาโนแบคทีเรียจากระบบน้ำหล่อเย็น ที่มีอายุ 2 สัปดาห์



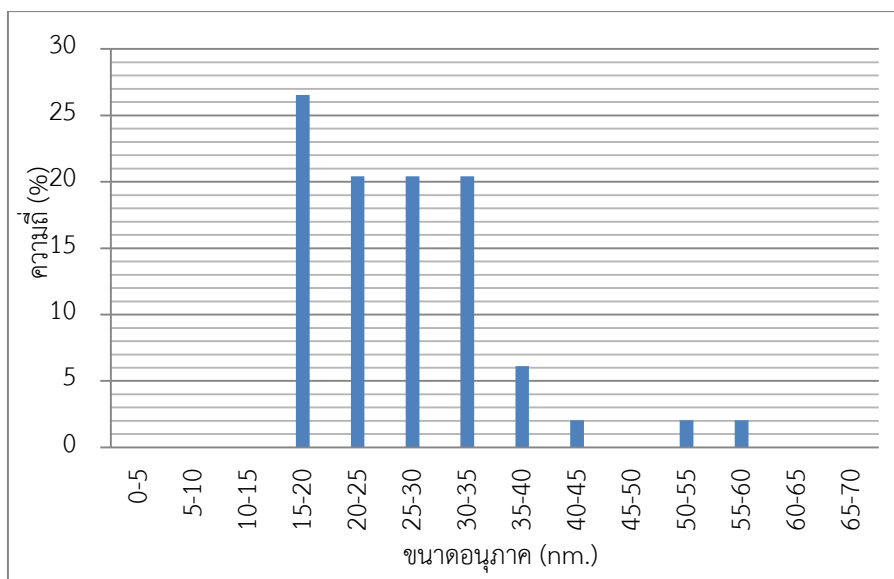
รูปที่ ก 5 กราฟแสดงการกระจายตัวของอนุภาคนาโนทรงแปดเหลี่ยม จากการใช้ไซยาโนแบคทีเรียปริมาณ 0.25 กรัม



รูปที่ ก 6 กราฟแสดงการกระจายตัวของอนุภาคนาโนทองแบบไม่มีรูปทรง จากการใช้ไซยาโนแบคทีเรียปริมาณ 0.25 กรัม

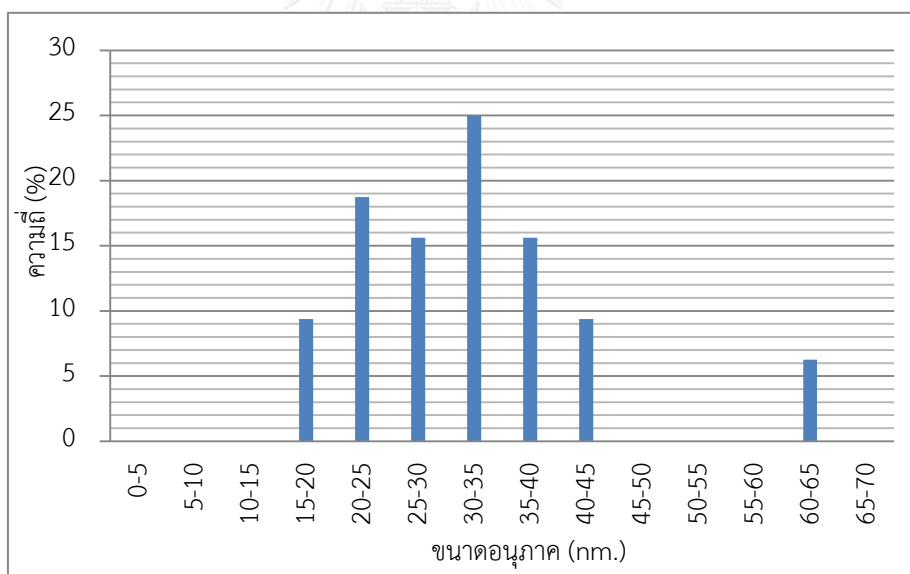


รูปที่ ก 7 กราฟแสดงการกระจายตัวของอนุภาคนาโนทองทรงกลม จากการใช้ไซยาโนแบคทีเรียปริมาณ 0.30 กรัม

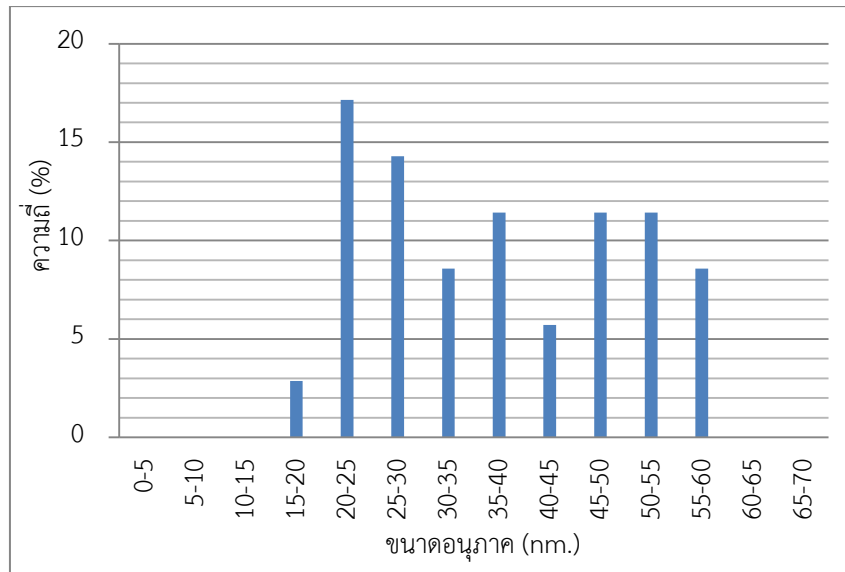


รูปที่ ก 8 กราฟแสดงการกระจายตัวของอนุภาคนาโนทรงแปดเหลี่ยมแบบไม่มีรูพรุน จากการใช้ไซยาโนแบคทีเรียปริมาณ 0.30 กรัม

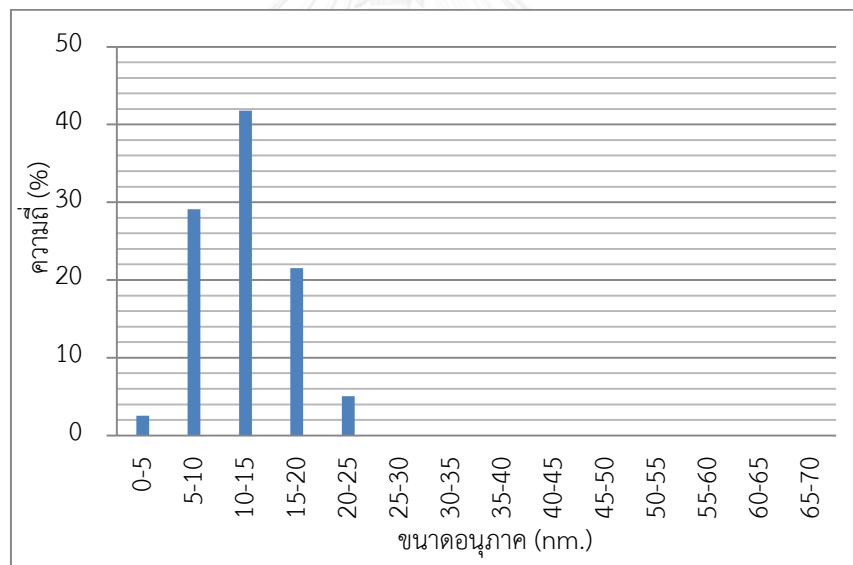
4 อนุภาคนาโนทรงแปดเหลี่ยมที่ได้จากไซยาโนแบคทีเรียจากระบบน้ำหล่อเย็น ที่มีอายุ 3 สัปดาห์



รูปที่ ก 9 กราฟแสดงการกระจายตัวของอนุภาคนาโนทรงแปดเหลี่ยม จากการใช้ไซยาโนแบคทีเรียปริมาณ 0.20 กรัม

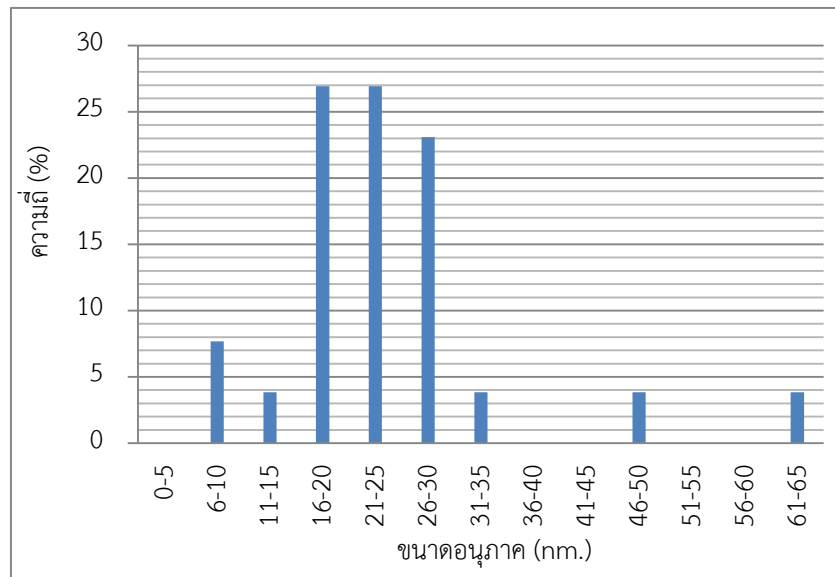


รูปที่ ก 10 กราฟแสดงการกระจายตัวของอนุภาคนาโนทองทรงกลม จากการใช้ไซยาโนแบคทีเรีย ปริมาณ 0.25 กรัม

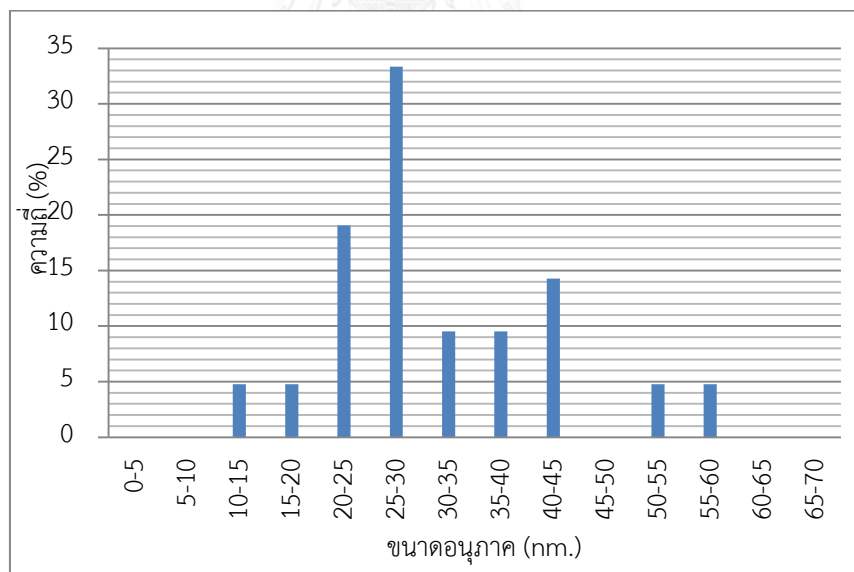


รูปที่ ก 11 กราฟแสดงการกระจายตัวของอนุภาคนาโนทองทรงกลม จากการใช้ไซยาโนแบคทีเรีย ปริมาณ 0.30 กรัม

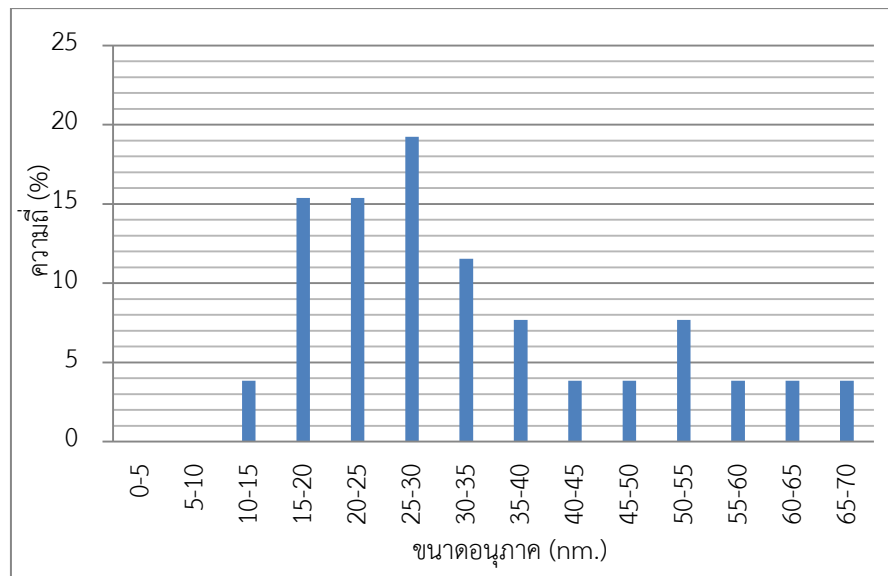
5 อนุภาคนาโนทองที่ได้จากไซยาโนแบคทีเรียจากห้องปฏิบัติการ ที่มีอายุ 3 สัปดาห์



รูปที่ ก 12 กราฟแสดงการกระจายตัวของอนุภาคนาโนทองทรงกลม จากการใช้ไซยาโนแบคทีเรีย ปริมาณ 0.20 กรัม



รูปที่ ก 13 กราฟแสดงการกระจายตัวของอนุภาคนาโนทองทรงกลม จากการใช้ไซยาโนแบคทีเรีย ปริมาณ 0.25 กรัม



รูปที่ ก 14 กราฟแสดงการกระจายตัวของอนุภาคนาโนทองทรงกลม จากการใช้ไซยาโนแบคทีเรีย ปริมาณ 0.30 กรัม



### ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายสรารุณี ไกรทอง เกิดเมื่อวันอังคารที่ 17 กรกฎาคม พ.ศ. 2533 ชุมพร สำเร็จ การศึกษาระดับมัธยมจากโรงเรียนบดินทรเดชา (สิงห์ สิงหเสนี) ๒ สำเร็จการศึกษาปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเคมีวิศวกรรม จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2555 และ เข้าศึกษาต่อระดับปริญญาโทบัณฑิต ในสาขาวิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2556

