



## โครงการ

# การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

**ชื่อโครงการ** การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองแดงสำหรับตรวจวัดโปรตีนในอาหาร  
Synthesis of copper nanoparticles for detection of protein  
in food

**ชื่อนิสิต** นายทศวีร์ พรพินิจสุวรรณ

**ภาควิชา** เคมี

**ปีการศึกษา** 2559

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองแดงสำหรับตรวจวัดโปรตีนในอาหาร

Synthesis of copper nanoparticles for detection of protein in food

โดย

นายพศวีร์ พรพิณิจสุวรรณ

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2559

โครงการ การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองแดงสำหรับตรวจวัดโปรตีนในอาหาร

โดย นายพศวีร์ พรพินิจสุวรรณ

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี  
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ

Nipalee C. ..... ประธานกรรมการ  
(อาจารย์ ดร.นิปภา สุขภิรมย์)

นันทนา อินสิน ..... อาจารย์ที่ปรึกษา  
(อาจารย์ ดร.นำพล อินสิน)

นิพนธ์ งาม ..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.คณศ วงษ์ระวี)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

..... หัวหน้าภาควิชาเคมี  
(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย พาราสุข)

วันที่ ..... เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2560

คุณภาพของการเขียนรายงานเล่มนี้อยู่ในระดับ  ดีมาก  ดี  พอใช้

ชื่อโครงการ                      การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองแดงสำหรับตรวจวัดโปรตีนในอาหาร  
ชื่อนิสิตในโครงการ            นายพศวีร์ พรพิณิจสุวรรณ                      เลขประจำตัว 5633114323  
ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา            อาจารย์ ดร.นำพล อินสิน  
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2559

### บทคัดย่อ

ได้ศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองแดง โดยอาศัยปฏิกิริยารีดักชันที่มีแหล่งของทองแดงเป็น copper(II) sulfate สารรักษาความเสถียรเป็น tri-sodium citrate และตัวรีดิวซ์เป็น hydrazine ในอัตราส่วนโดยโมลเท่ากับ 1:8:6 ตามลำดับ โดยพิสูจน์เอกลักษณ์อนุภาคนาโนทองแดงที่สังเคราะห์ด้วยเทคนิค X-ray Diffraction (XRD), Transmission Electron Microscope (TEM) และ UV-vis Spectroscopy พบว่าอนุภาคนาโนทองแดงที่สังเคราะห์ได้มีขนาดประมาณ 30 nm และนำอนุภาคนาโนทองแดงไปศึกษาการตรวจวัดปริมาณโปรตีนในสารละลายมาตรฐาน Bovine Serum Albumin (BSA) และสารละลายตัวอย่างนม ด้วยเทคนิค UV-vis Spectroscopy โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 599 nm ได้ช่วงความเข้มข้นโปรตีนที่ตรวจวัดให้การตอบสนองเป็นเส้นตรงในช่วง 0-0.016 mg/mL สำหรับสารละลายทั้งสองชนิด และมีค่า limit of detection ของการตรวจโปรตีนเท่ากับ  $3 \times 10^{-5}$  mg/mL สำหรับสารละลาย BSA และ  $8 \times 10^{-5}$  mg/mL สำหรับสารละลายนม นอกจากนี้ได้ศึกษาผลของปริมาณอนุภาคต่อการตรวจวัดปริมาณโปรตีน พบว่าเมื่อใช้ปริมาณอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงเพิ่มขึ้นช่วงความเข้มข้นที่ตรวจวัดได้จะกว้างขึ้นเช่นกัน

คำสำคัญ:                      อนุภาคนาโนทองแดง, การตรวจวัดปริมาณโปรตีน, โปรตีนในนม

Project Title                    Synthesis of copper nanoparticles for detection of protein in food

Student Name                    Mr.Potsawee Pornpinituwan                    Student ID 5633114323

Advisor Name                    Numpon Insin, Ph.D.

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2016

### Abstract

Copper nanoparticles were synthesized by reduction method, using copper(II) sulfate, tri-sodium citrate and hydrazine for copper precursor, stabilizer and reducing agent, respectively, in molar ratio of 1:8:6. Copper nanoparticles were characterized using X-ray Diffraction (XRD), Transmission Electron Microscope (TEM) and UV-vis Spectroscopy, and it was found that copper nanoparticles have diameter of around 30 nm. Copper nanoparticles were then used for determining protein content of standard solution (Bovine Serum Albumin; BSA) and sample solution (milk) by UV-vis Spectroscopy. Protein content was detected in a linear range of 0-16  $\mu\text{g/mL}$  for both solutions. The limit of detection is  $3 \times 10^{-5}$  mg/mL for BSA solution and  $8 \times 10^{-5}$  mg/mL for milk solution. The effect of concentration of copper nanoparticles on protein content measurement was studied. The more copper nanoparticles, the wider linear range for protein content measurement.

Keywords:                    Copper nanoparticles, Protein Detection, Milk protein



### กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยและรายงานฉบับนี้จะไม่สำเร็จได้หากไม่ได้รับความกรุณาอย่างสูงจาก อาจารย์ ดร.นำพล อินสิน อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการที่กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ และแนวทางการดำเนินงานวิจัย อีกทั้งสละเวลาในการให้ความช่วยเหลือในด้านต่าง ๆ มาโดยตลอดเป็นอย่างยิ่ง

ขอขอบคุณพี่ ๆ ในห้องปฏิบัติการ NI ทุกท่านที่ให้ความรู้เกี่ยวกับเทคนิคต่าง ๆ การดูแลรักษาเครื่องมือ และเอื้อเฟื้ออุปกรณ์และสารเคมีที่จำเป็น รวมถึงให้กำลังใจเสมอมา

ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้การสนับสนุนการวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณกำลังใจและความช่วยเหลือจากครอบครัว รวมทั้งเพื่อน ๆ พี่ ๆ น้อง ๆ ในภาควิชาเคมี ผู้วิจัยระลึกในความกรุณาของทุกท่านที่ได้กล่าวมาข้างต้น และบุคคลที่มีได้เอ่ยนามมา ณ ที่นี้

ผู้วิจัย



## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญรูป	ช
สารบัญตาราง	ฎ
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	<b>1</b>
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 ทฤษฎีที่สำคัญ	2
1.3 วัตถุประสงค์และขอบเขตงานวิจัย	5
1.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
<b>บทที่ 2 การทดลอง</b>	<b>14</b>
2.1 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง	14
2.2 สารเคมีและอุปกรณ์	14
2.2.1 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองแดง	14
2.2.1.1 สารเคมีที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองแดง	14
2.2.1.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองแดง	14
2.2.2 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณโปรตีนมาตรฐาน	15
2.2.2.1 สารเคมีที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณโปรตีนมาตรฐาน	15
2.2.2.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณโปรตีนมาตรฐาน	15
2.2.3 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณโปรตีนในสารตัวอย่าง	15
2.2.3.1 สารเคมีที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณโปรตีนในสารตัวอย่าง	15
2.2.3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณโปรตีนในสารตัวอย่าง	15
2.3 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองแดง	16
2.4 การตรวจวัดปริมาณโปรตีนมาตรฐาน	16
2.5 การตรวจวัดปริมาณโปรตีนในสารตัวอย่าง	17
2.6 การศึกษาผลของจำนวนอนุภาคต่อการตรวจวัดโปรตีน	18
<b>บทที่ 3 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง</b>	<b>19</b>
3.1 การพิสูจน์เอกลักษณ์อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดง	19
3.1.1 X-ray Diffraction (XRD)	19
3.1.2 Transmission Electron Microscope (TEM)	20
3.1.3 UV-vis Spectroscopy	21
3.2 การตรวจวัดปริมาณโปรตีนมาตรฐาน BSA	23

3.3 การตรวจวัดปริมาณโปรตีนจากนมในสารละลายตัวอย่าง	26
3.4 การศึกษาผลของจำนวนอนุภาคต่อการตรวจวัดโปรตีน	30
<b>บทที่ 4 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะจากการทดลอง</b>	<b>34</b>
เอกสารอ้างอิง	35
ประวัติผู้วิจัย	38





## สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 1.1 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านของอนุภาคระดับนาโนเมตรของเงิน	2
รูปที่ 1.2 แผนภาพแสดงการกระตุ้นพลาสมอนบนพื้นผิวของอนุภาคโลหะ	3
รูปที่ 1.3 แสดงขั้นตอนของไปโอเซ็นเซอร์	3
รูปที่ 1.4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการละลายน้ำของสารและความเข้มข้นของเกลือ	4
รูปที่ 1.5 แผนภาพแสดงแรงระหว่างขั้วของสาร	4
รูปที่ 1.6 แสดง colorimetric sensor assay	5
รูปที่ 1.7 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ L-ascorbic acid ต่อความเข้มข้นของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่สังเคราะห์ได้	6
รูปที่ 1.8 แสดง Spectra การดูดกลืนแสงของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่มีสารรักษาความเสถียรเป็น (a) acetic acid, (b) glycolic acid, (c) alanine, (d) lactic acid และ (e) citric acid	6
รูปที่ 1.9 แสดงผลของเวลาและ pH ต่อ absorption spectra ของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดง	7
รูปที่ 1.10 แสดงผลของอัตราส่วนระหว่างตัวรีดิวซ์และสารตั้งต้นของทองแดงต่อขนาดของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่สังเคราะห์	7
รูปที่ 1.11 แสดงผลของชนิดตัวรีดิวซ์ต่อ Spectrum การดูดกลืนแสงของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดง โดยตัวรีดิวซ์ที่ใช้คือ (a) hydrazine hydrate (HH) และ (b) sodium formaldehyde sulfoxylate (SFS)	8
รูปที่ 1.12 แสดง X-ray diffraction pattern ของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่รักษาความเสถียรด้วย myristic acid และ citrate	8
รูปที่ 1.13 ในหลอดที่ 1-10 แสดงสีของสารละลายผสมของสารละลายอนุภาคระดับนาโนเมตรของเงิน สารละลาย NaCl และสารละลาย BSA ที่มีความเข้มข้น 0, 1, 10, 30, 50, 70, 90, 110, 150 และ 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ตามลำดับ และหลอดที่ 11 แสดงสีของสารละลายอนุภาคระดับนาโนเมตรของเงิน (control)	9
รูปที่ 1.14 แสดงการกระจายตัวของอนุภาคระดับนาโนเมตรของเงิน (a) สารละลายอนุภาคระดับนาโนเมตรของเงิน (control) (b)-(f) สารละลายผสมของสารละลายอนุภาคระดับนาโนเมตรของเงิน สารละลาย NaCl และสารละลาย BSA ที่มีความเข้มข้น 0, 1, 10, 50 และ 110 $\mu\text{g}/\text{mL}$	10
รูปที่ 1.15 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ BSA และค่าการดูดกลืนแสงที่ 407 nm	10
รูปที่ 1.16 แสดงหลักการของการทดลองของ Wang และคณะ	11
รูปที่ 1.17 แสดง Fluorescence Spectra ของสารละลายผสม biotin-T30 templated Cu NPs และ streptavidin ที่มีความเข้มข้น 0.5, 1, 5, 10, 20, 50, 100, 500 และ 1000 nM	11
รูปที่ 1.18 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ streptavidin และปริมาณแสงที่อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงเปล่งออกมา	12

รูปที่ 3.1 แสดง X-ray Diffraction pattern ของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงและทองแดงมาตรฐาน (PDF 04-0836) จากเครื่อง X-ray powder diffractometer	19
รูปที่ 3.2 แสดงการกระจายตัวของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดง จากเครื่อง Transmission Electron Microscope ที่กำลังขยาย 2,500 เท่า	20
รูปที่ 3.3 แสดงการกระจายตัวของขนาดอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดง	21
รูปที่ 3.4 แสดง Spectra การดูดกลืนแสงในช่วง UV-visible ของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงและสารละลาย $\text{CuSO}_4$ จากเครื่อง UV-vis spectrophotometer	21
รูปที่ 3.5 แสดง Spectra การดูดกลืนแสงในช่วง UV-visible ของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงหลังจากการสังเคราะห์ (1) และหลังจากเก็บไว้เป็นเวลา 3 วัน (2) จากเครื่อง UV-vis spectrophotometer	22
รูปที่ 3.6 แสดง X-ray Diffraction pattern ของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่เก็บไว้เป็นเวลา 11 วัน ทองแดงมาตรฐาน (PDF 04-0836) และออกไซด์ของทองแดง (PDF 05-0667) จากเครื่อง X-ray powder diffractometer	23
รูปที่ 3.7 แสดงของสีสารละลายผสมเมื่อเวลาบ่มครบ 1 ชั่วโมง โดยสารละลายผสมมีความเข้มข้น BSA 0, 5, 10, 15 และ 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ตามลำดับ	23
รูปที่ 3.8 แสดง Spectra การดูดกลืนแสงในช่วง UV-visible ของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงหลังจากการบ่มสารกับ สารละลาย BSA และ NaCl เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากเครื่อง UV-vis Spectrophotometer	24
รูปที่ 3.9 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ BSA ในสารละลายผสม และ ค่าการดูดกลืนแสงที่ 599 nm	25
รูปที่ 3.10 แผนภาพแสดงกลไกที่ใช้อธิบายการเปลี่ยนแปลงการกระจายอนุภาคซึ่งส่งผลต่อการดูดกลืนแสงของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดง	26
รูปที่ 3.11 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ BSA ในสารละลายผสม และ ค่าการดูดกลืนแสงที่ 599 nm ในช่วงความเข้มข้น BSA 0-28 $\mu\text{g}/\text{mL}$	26
รูปที่ 3.12 แสดงของสีสารละลายผสมเมื่อเวลาบ่มครบ 1 ชั่วโมง โดยสารละลายผสมมีนมผสมอยู่ 0.00, 0.80, 1.60, 2.40, 3.20, 4.00 $\mu\text{L}$ ตามลำดับ	27
รูปที่ 3.13 แสดง Spectra การดูดกลืนแสงในช่วง UV-visible ของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงหลังจากการบ่มสารกับสารละลายนมและ NaCl เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากเครื่อง UV-vis Spectrophotometer	28
รูปที่ 3.14 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรนมในสารละลายผสม และ ค่าการดูดกลืนแสงที่ 599 nm	29
รูปที่ 3.15 แสดง Spectra การดูดกลืนแสงในช่วง UV-visible ของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงหลังจากการบ่มสารกับนมในช่วง 0.00-4.00 $\mu\text{L}$ และ NaCl เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากเครื่อง UV-vis Spectrophotometer	29
รูปที่ 3.16 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรนมในสารละลายผสม และ ค่าการดูดกลืนแสงที่ 599 nm ในช่วงปริมาตรนม 0.00-4.00 $\mu\text{L}$	30



รูปที่ 3.17 แสดงการกระจายตัวของอนุภาคนาโนทองแดงในสารละลายผสมที่มีนมนปริมาตร 0.00 และ 4.00 $\mu\text{L}$ ตามลำดับ	31
รูปที่ 3.18 แสดง Spectra การดูดกลืนแสงในช่วง UV-visible ของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่หลังจากการบ่มสารกับ สารละลาย BSA และ NaCl เป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยมีอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดง 2 เท่า จากเครื่อง UV-vis Spectrophotometer	32
รูปที่ 3.19 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ BSA ในสารละลายผสม และ ค่าการดูดกลืนแสงที่ 599 nm โดยมีปริมาณอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดง 2 เท่า	32
รูปที่ 3.20 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ BSA ในสารละลายผสมในช่วง 0-50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ และ ค่าการดูดกลืนแสงที่ 599 nm โดยมีปริมาณอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดง 2 เท่า	33



## สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ตารางปริมาตรสารละลายเพื่อการตรวจวัดปริมาณโปรตีนมาตรฐาน	16
ตารางที่ 2 ตารางปริมาตรสารละลายเพื่อการตรวจวัดปริมาณโปรตีนในสารตัวอย่าง	17
ตารางที่ 3 ตารางปริมาตรสารละลายเพื่อศึกษาผลของจำนวนอนุภาคต่อการตรวจวัดโปรตีน	18





## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

นมเป็นอาหารจากธรรมชาติที่มีคุณค่าทางโภชนาการที่สูง อุดมไปด้วยแร่ธาตุและสารอาหารครบ 5 หมู่ คือ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน วิตามิน และเกลือแร่ ทำให้มีการบริโภคนมและผลิตภัณฑ์จากนมอย่างแพร่หลาย จากข้อมูลของ Tetra Pak Compass, All Liquid Food (1) ในปี 2013 พบว่ามีการบริโภคนมในรูปแบบของเหลว เป็น 17.3% ของเครื่องดื่มทั้งหมด คิดเป็นอันดับ 2 ของโลก และ Compass Products and Package (2) ในปี 2014 รายงานว่ามีการบริโภคผลิตภัณฑ์นมตามธรรมชาติเฉลี่ยอยู่ที่ 21.9 ลิตรต่อปีและผลิตภัณฑ์นมที่ผ่านการปรุงแต่งเฉลี่ยอยู่ที่ 10.8 ลิตรต่อปี

การตรวจสอบคุณภาพและมาตรฐานของน้ำนมต้องตรวจสอบสมบัติต่าง ๆ ของนมเช่น การตรวจสอบสี การตรวจสอบกลิ่น รวมถึงการตรวจสอบส่วนประกอบของนม โดยเกณฑ์มาตรฐานของแต่ละองค์ประกอบจะถูกกำหนดโดยสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) ซึ่งโปรตีนเป็นหนึ่งในองค์ประกอบที่ต้องผ่านการตรวจสอบและต้องผ่านมาตรฐานของมกอช.ถึงจะถือว่าเป็นนมที่มีคุณภาพ

ในงานวิจัยที่ผ่านมาได้มีการนำอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองและอนุภาคระดับนาโนเมตรของเงินมาใช้ในการตรวจวัดปริมาณโปรตีน Chen และคณะ (3) ได้พัฒนาการตรวจวัดปริมาณโปรตีนโดยใช้อนุภาคนาโนทอง โดยมีการใช้ Rolling Circle Amplification (RCA) ในการขยายสัญญาณ ทำให้สามารถตรวจวัดปริมาณโปรตีนได้ในระดับความเข้มข้น 33.45 pg/mL Nietzold และ Lisdat (4) ได้พัฒนาการตรวจวัดปริมาณโปรตีนโดยอาศัยการรวมตัวกันของอนุภาคนาโนทองและสามารถตรวจวัดโปรตีนในช่วงความเข้มข้น 0.1-0.4 µg/mL Shrivastava และ Dash (5) ได้พัฒนาการตรวจวัดปริมาณโปรตีนด้วยอนุภาคนาโนเงินที่ไม่ถูกการดัดแปร โดยสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินด้วยตัวรีดิวซ์และนำอนุภาคนาโนเงินที่ได้ไปผสมกับสารละลายโปรตีนและสารละลาย NaCl จากนั้นนำสารผสมไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนที่ 407 nm ค่าการดูดกลืนจะสัมพันธ์กับปริมาณโปรตีนที่อยู่ในสารละลาย โดยช่วงปริมาณโปรตีนที่ตรวจวัดได้คือ 10-80 µg/mL และ Salman และคณะ (6) ใช้อนุภาคนาโนเงินในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนอัลบูมิน โดยสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินโดยวิธีรีดอกซ์ด้วยสารโค-ออดิเนตโคเวเลนต์ลิงค์เกจของอนุพันธักลูโคส (coordinate covalent linkages of glucose derivatives) การดูดซับ BSA (Bovine Serum Albumin) บนอนุภาคนาโนเงินส่งผลโดยตรงกับสมบัติในการดูดกลืนแสงในช่วงยูวี-วิสิเบิล โดยสามารถตรวจวัดปริมาณโปรตีนอัลบูมินได้

ในระดับนาโน (LOD = 3nM)ทองแดง เงินและทองเป็นธาตุที่อยู่หมู่ IB เช่นเดียวกัน สมบัติโดยรวมของทองแดง เงินและทองจึงไม่แตกต่างกันมากนัก แต่มูลค่าของทองและเงินสูงกว่าทองแดง ผู้วิจัยจึงจะนำทองแดงมาใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทดแทนการใช้เงินเพื่อลดค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์

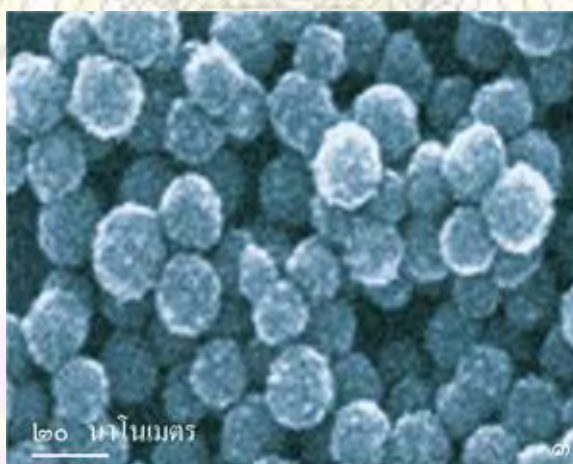
ในงานวิจัยที่ผ่านมาเคยมีการนำอนุภาคนาโนทองแดงมาใช้ในการตรวจวัดปริมาณโปรตีน Wang และคณะ (7) ได้ใช้สาย poly-thymine ในการตัดแปรรูปร่างอนุภาคนาโนทองแดง จะได้เป็นสารเปล่งแสง และสามารถตรวจวัดปริมาณโปรตีนโดยใช้เทคนิค Fluorescence Spectroscopy ได้ในช่วงความเข้มข้น 0.5-1000 nM แสดงว่าอนุภาคนาโนทองแดงมีสมบัติในการตรวจวัดโปรตีน แต่ยังไม่มียานวิจัยที่ใช้อนุภาคนาโนทองแดงที่ไม่ผ่านการตัดแปรรูปร่างในการตรวจวัดโปรตีน

ดังนั้นในงานวิจัยชิ้นนี้จึงสนใจที่จะทำการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองแดงด้วยตัวรีดิคซ์โดยมีสารกลุ่มกรดคาร์บอกซิลิกเป็นสารรักษาความเสถียรและนำอนุภาคนาโนทองแดงที่ไม่ถูกตัดแปรรูปร่างไปตรวจวัดโปรตีนในอาหาร

## 1.2 ทฤษฎีที่สำคัญ

### อนุภาคนาโน (Nanoparticle)

อนุภาคนาโนคืออนุภาคที่มีขนาดเล็กกว่า 100 nm ในอย่างน้อย 1 มิติ โดยอนุภาคนาโนมีสมบัติก้ำกึ่งระหว่างวัสดุที่มีขนาดใหญ่และโครงสร้างโมเลกุลหรืออะตอม โดยสมบัติของอนุภาคนาโนแตกต่างจากวัสดุที่มีขนาดใหญ่ เช่น สมบัติทางไฟฟ้า สมบัติทางกายภาพ สมบัติทางแม่เหล็ก และสมบัติทางแสง (8), (9), (10) เช่น อนุภาคระดับนาโนเมตรของเงิน ดังรูปที่ 1.1

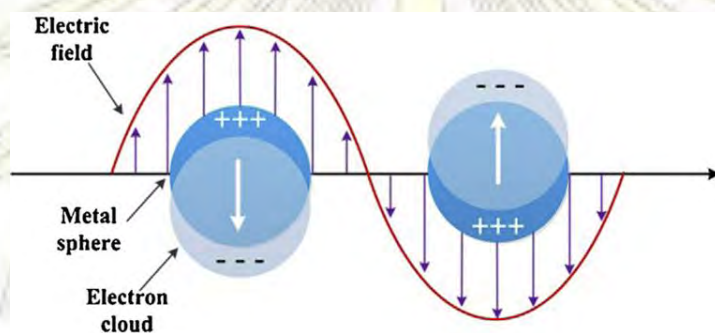


รูปที่ 1.1 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านของอนุภาคระดับนาโนเมตรของเงิน (9)



### เซอร์เฟซพลาสมอนเรโซแนนซ์ (Surface Plasmon Resonance)

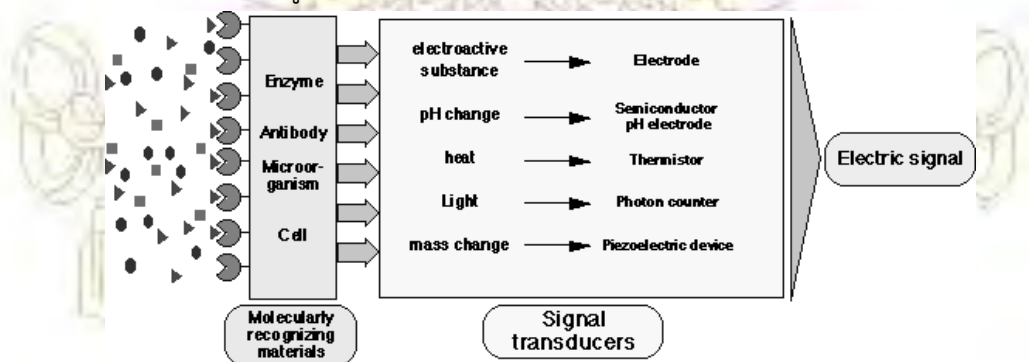
เซอร์เฟซพลาสมอนเรโซแนนซ์คือปรากฏการณ์เชิงแสงที่เกิดขึ้นเมื่อมีคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าจากภายนอกมาตกกระทบบโลหะ ดังรูปที่ 1.2 กลุ่มอิเล็กตรอนที่อยู่ในอนุภาคระดับนาโนจะเกิดการสั่นรวม (collective oscillation) และเมื่อคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าจากภายนอกมีความยาวคลื่นเท่ากับ ความยาวคลื่นที่อิเล็กตรอนสั่นในอนุภาคนาโน จะทำให้เกิดการสั่นพ้อง (resonance) ขึ้น ซึ่งอันตรกิริยาที่แสงกระทบบโลหะจะเกิดได้สองแบบ คือ แสงจะตกกระทบบและสะท้อนออกไปด้วยความยาวคลื่นเท่าเดิมทุกทิศทางเรียกว่าการกระเจิง (scattering) และในขณะเดียวกันบางโฟตอนก็จะถูกดูดกลืนและถูกเปลี่ยนไปเป็นพลังงานการสั่นซึ่งเรียกว่าการดูดกลืนแสง (absorption) ซึ่งโดยทั่วไปแล้วโครงสร้างระดับนาโนของทองจะเกิดทั้งกระบวนการกระเจิงแสงและการดูดกลืนแสงซึ่งสมบัติเหล่านี้จะขึ้นอยู่กับขนาดและรูปร่างของอนุภาคนาโน ยกตัวอย่างเช่น อนุภาคแบบทรงกลมของทอง (11), (12)



รูปที่ 1.2 แผนภาพแสดงการกระตุ้นพลาสมอนบนพื้นผิวของอนุภาคโลหะ (12)

### ไบโอเซ็นเซอร์ (Biosensor)

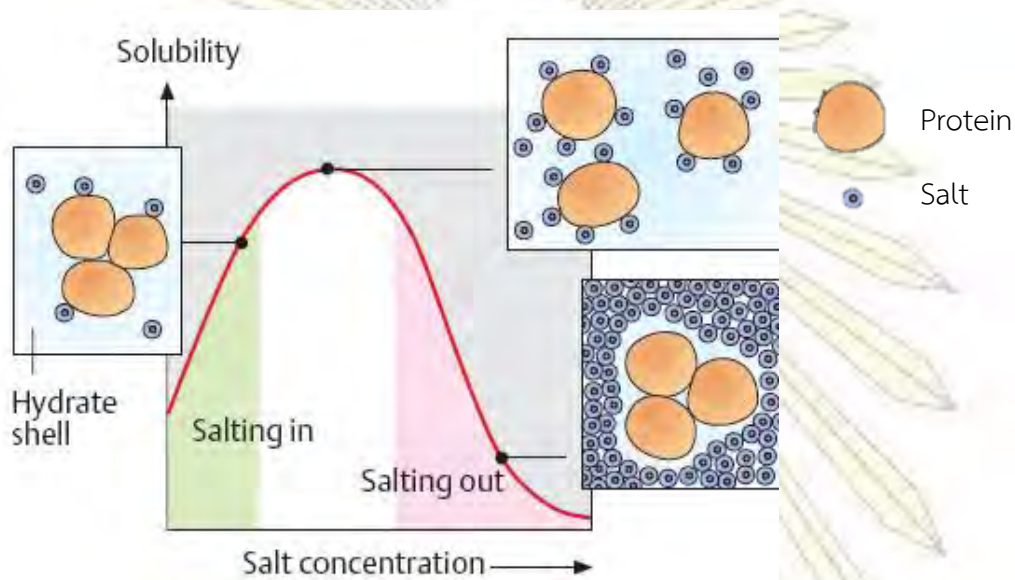
ไบโอเซ็นเซอร์คืออุปกรณ์ตรวจวัดทางชีวภาพที่พัฒนาขึ้นเพื่อตรวจวิเคราะห์สารตัวอย่างประกอบด้วยอุปกรณ์ 2 ส่วน คือ ตัวแปลงสัญญาณ สำหรับแปลงสัญญาณเฉพาะต่าง ๆ เช่น แสงและ สารชีวภาพ เป็นสารที่มีความสามารถทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการวิเคราะห์ เช่น การตรวจวัดระดับน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยเบาหวาน การตรวจวัดวิตามินในอาหาร โดยขั้นตอนของไบโอเซ็นเซอร์เป็นดังรูปที่ 1.3 (13), (14)



รูปที่ 1.3 แสดงขั้นตอนของไบโอเซ็นเซอร์ (13)

## Salting Out

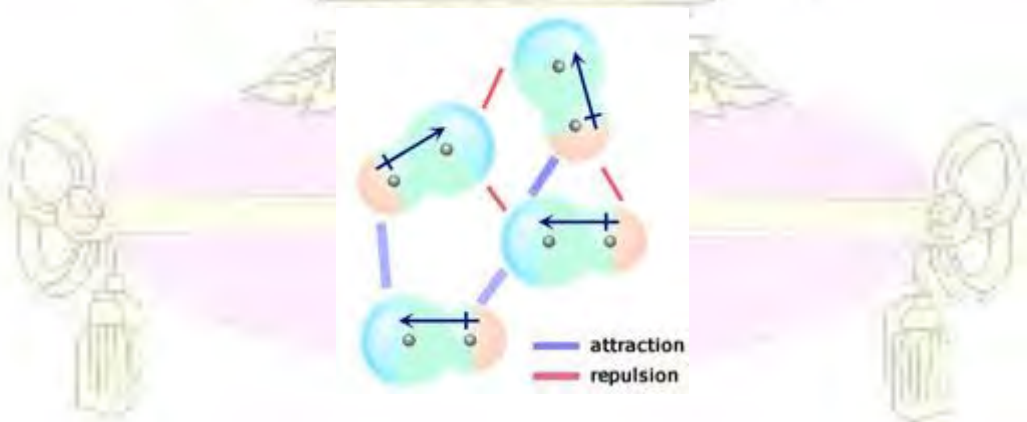
Salting Out คือการลดการละลายน้ำของสารโดยใช้เกลือที่มีความเข้มข้นสูง เป็นวิธีการแยกสารออกจากสารละลาย เกลือจะแตกตัวเป็นไอออนและมีแรงดึงดูดกับโมเลกุลน้ำมากกว่าสาร ทำให้สารแยกตัวกับน้ำและตกตะกอน เช่น การกำจัดโปรตีนออกจากสารละลาย ซึ่งมีความสัมพันธ์ระหว่างค่าการละลายของสารและความเข้มข้นของเกลือ ดังรูปที่ 1.4 (15)



รูปที่ 1.4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการละลายน้ำของสารและความเข้มข้นของเกลือ (15)

## แรงระหว่างขั้ว (Dipole-Dipole Force)

แรงระหว่างขั้วคือแรงระหว่างโมเลกุลชนิดหนึ่ง เป็นแรงดึงดูดทางไฟฟ้าที่มาจากแรงกระทำกันระหว่างขั้วบวกและขั้วลบของโมเลกุลที่มีขั้ว ดังรูปที่ 1.5 (16) (17) (18)



รูปที่ 1.5 แผนภาพแสดงแรงระหว่างขั้วของสาร (18)

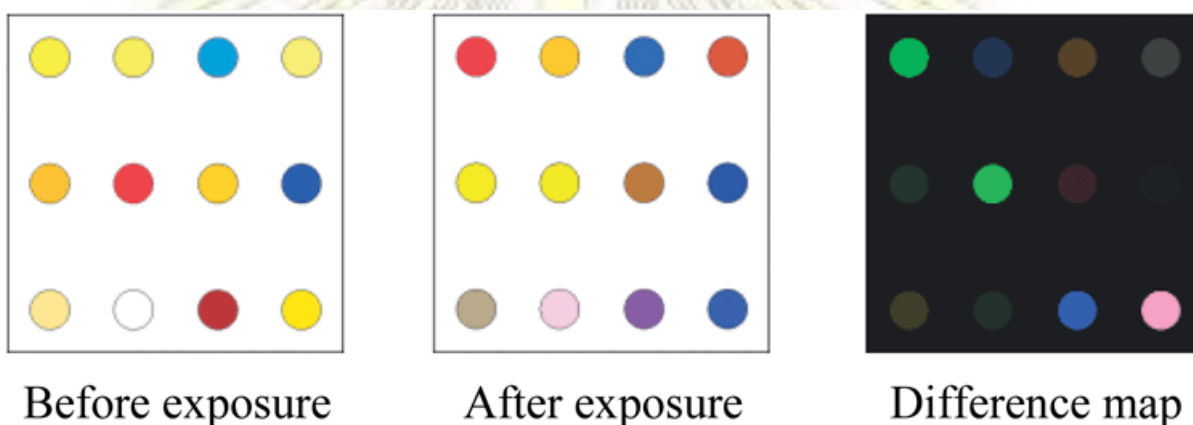


### กรด-เบสแบบฮาร์ด-ซอฟต์ (Hard-Soft Acids-Bases)

เป็นทฤษฎีที่กล่าวถึงความเสถียรด้าน Thermodynamic ของสารเชิงซ้อนของโลหะที่เป็นผลมาจากสมบัติของโลหะและลิแกนด์ และชนิดของพันธะ โดสมบัตฮาร์ด-ซอฟต์ขึ้นอยู่กับชนิดของธาตุรวมถึงขนาดและประจุ โดยสารประกอบที่มีสมบัติเหมือนกันจะมีพันธะที่แข็งแรงกว่า สารประกอบที่มีสมบัติต่างกัน (19)

### เซ็นเซอร์เชิงสี (Colorimetric Sensor)

ตัวบ่งชี้ทางเคมีที่มีสีเข้ามาเกี่ยวข้อง โดยสามารถสังเกตได้จากสีที่ปรากฏ หรือสีของสารที่เปลี่ยนแปลงไปหลังจากหยดสารตัวอย่าง ดังรูปที่ 1.6 ที่มีการเปลี่ยนแปลงของสีหลังจากหยดสารตัวอย่าง (20), (21)



รูปที่ 1.6 แสดง colorimetric sensor assay (21)

### 1.3 วัตถุประสงค์และขอบเขตของงานวิจัย

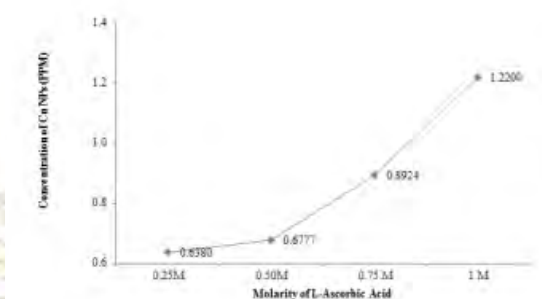
- 1) สังเคราะห์อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงด้วยตัวรีดิวซ์
- 2) ประยุกต์อนุภาคนาโนทองแดงเพื่อการตรวจสอบโปรตีนในสารละลาย

### 1.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

งานวิจัยที่ผ่านมา มีการสังเคราะห์อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงหลากหลายวิธี คือ

Umer และคณะ (22) ทำการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองแดงด้วย L-ascorbic acid ที่อุณหภูมิ 90 °C เป็นเวลา 17 ชั่วโมง ได้อนุภาคนาโนทองแดงที่มีขนาด 50-60 nm และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ L-ascorbic acid ความเข้มข้นของอนุภาคนาโนทองแดงจะยิ่งเพิ่มมากขึ้น โดย

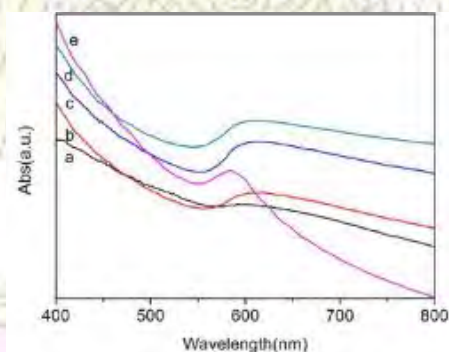
ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ L-ascorbic acid ต่อความเข้มข้นของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่สังเคราะห์ได้เป็นดังรูปที่ 1.7



รูปที่ 1.7 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ L-ascorbic acid ต่อความเข้มข้นของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่สังเคราะห์ได้ (22)

จากการศึกษาวิจัยชิ้นนี้ที่ใช้ L-ascorbic เป็นตัวรีดิวซ์ พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นหรือปริมาณของตัวรีดิวซ์แล้วจะทำให้สามารถสังเคราะห์อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงได้มากขึ้นโดยใช้ปริมาณสารตั้งต้นของทองแดงในปริมาณเท่าเดิม แต่งานวิจัยชิ้นนี้ใช้อุณหภูมิในการสังเคราะห์ที่สูงและใช้เวลานาน

Deng และคณะ (23) ทำการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองแดงโดยเปลี่ยนแปลงชนิดของสารที่ทำหน้าในการรักษาความเสถียรของอนุภาคนาโนทองแดง พบว่าสารกลุ่มกรดคาร์บอกซิลิกที่มีสายสั้นจะสามารถรักษาความเสถียรของอนุภาคนาโนไว้ได้ โดยนำอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่ถูกรักษาความเสถียรด้วยสารต่าง ๆ ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วง UV-visible ได้ Spectra ดังรูปที่ 1.8

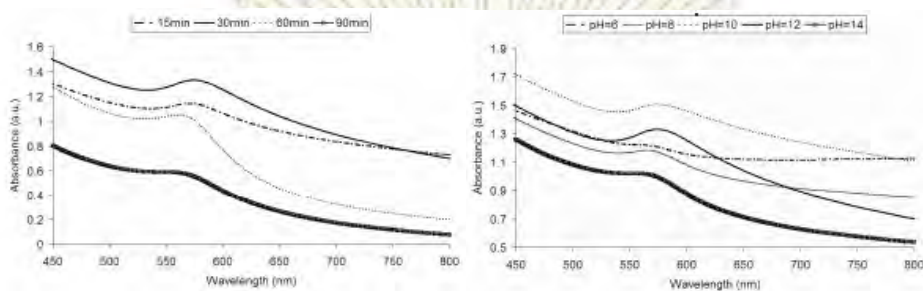


รูปที่ 1.8 แสดง Spectra การดูดกลืนแสงของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่มีสารรักษาความเสถียรเป็น (a) acetic acid, (b) glycolic acid, (c) alanine, (d) lactic acid และ (e) citric acid (23)

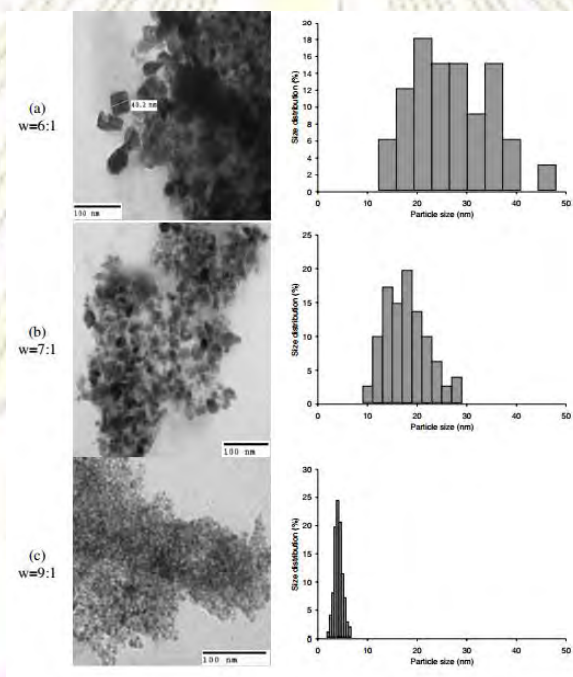
จากการศึกษาวิจัยชิ้นนี้ พบว่าเมื่อใช้สารรักษาความเสถียรในการสังเคราะห์อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงเป็น citric acid ซึ่งเป็นสารในกลุ่มกรดคาร์บอกซิลิก อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่สังเคราะห์ได้จะดูดกลืนแสงในช่วงการดูดกลืนเอกลักษณ์ของอนุภาคระดับนาโนเมตร

ของทองแดง แสดงว่า citric acid เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดง

Dang และคณะ (24) ทำการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองแดงโดยเปลี่ยนแปลงสภาวะของการสังเคราะห์ พบว่าค่า ระยะเวลา pH และอัตราส่วนระหว่างตัวรีดิวซ์และสารตั้งต้นของทองแดงส่งผลต่อของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่ได้จากการสังเคราะห์ ดังรูปที่ 1.9 และ 1.10



รูปที่ 1.9 แสดงผลของเวลาและ pH ต่อ absorption spectra ของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดง (24)

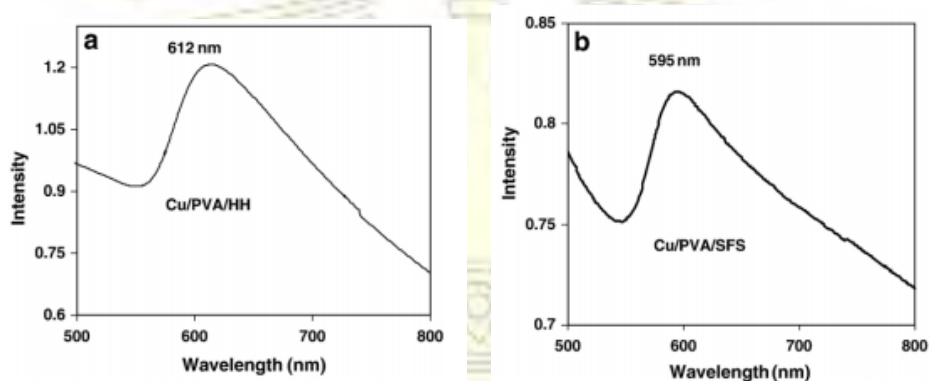


รูปที่ 1.10 แสดงผลของอัตราส่วนระหว่างตัวรีดิวซ์และสารตั้งต้นของทองแดงต่อขนาดของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่สังเคราะห์ (24)

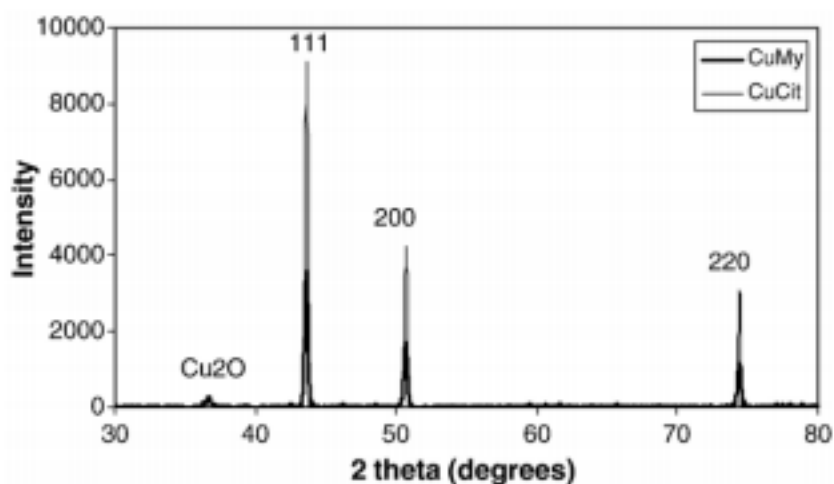
จากการศึกษางานวิจัยชิ้นนี้ พบว่าระยะเวลาและค่า pH ที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงส่งผลต่ออนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดง โดยระยะเวลาสังเคราะห์ที่เหมาะสมที่สุดคือ 60 นาที และ pH ที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์คือ pH ที่อยู่ในช่วงเบส นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณของตัวรีดิวซ์จะส่งผลต่อขนาดของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดง

โดยเมื่อเพิ่มปริมาณตัวรีดิวซ์ จะทำให้ขนาดของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่สังเคราะห์ได้มีขนาดที่เล็กลง

Khanna และคณะ (25) ทำการสังเคราะห์อนุภาคนาโนโดยปรับเปลี่ยนสารที่ใช้ในการรีดิวซ์ และสารที่ใช้ในการรักษาความเสถียรของอนุภาคนาโนทองแดง พบว่าชนิดของตัวรีดิวซ์จะส่งผลต่อขนาดของอนุภาคนาโนโดยอนุภาคนาโนทองแดงที่ได้ โดยได้พิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค UV-vis Spectroscopy ดังรูปที่ 1.11 และสารกลุ่มกรดคาร์บอกซิลิกสามารถช่วยรักษาความเสถียรของอนุภาคนาโนทองแดงไม่ให้เกิดปฏิกิริยาเป็นคิปริกออกไซด์ ซึ่งได้พิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค XRD ดังรูป 1.12



รูปที่ 1.11 แสดงผลของชนิดตัวรีดิวซ์ต่อ Spectrum การดูดกลืนแสงของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดง โดยตัวรีดิวซ์ที่ใช้คือ (a) hydrazine hydrate (HH) และ (b) sodium formaldehyde sulfoxylate (SFS) (25)



รูปที่ 1.12 แสดง X-ray diffraction pattern ของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่รักษาความเสถียรด้วย myristic acid และ citrate (25)

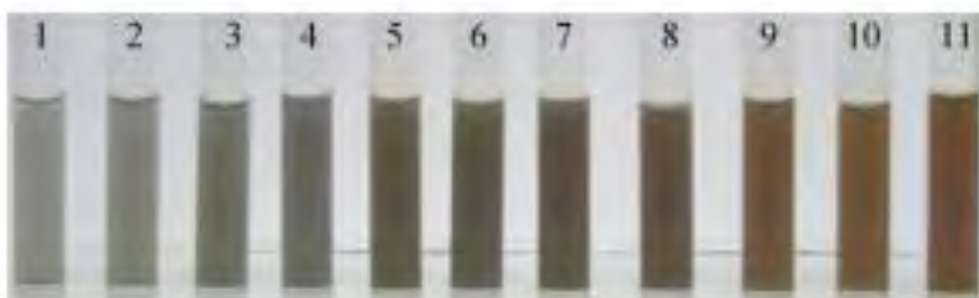


จากการศึกษาวิจัยชิ้นนี้พบว่าชนิดของตัวรีดิวซ์ส่งผลต่อขนาดของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่สังเคราะห์ได้ โดยอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่สังเคราะห์ด้วย sodium formaldehyde sulfoxylate จะมีขนาดเล็กกว่าอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่สังเคราะห์ด้วย hydrazine hydrate สังเกตได้จากค่าความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนแสงสูงที่สุดจาก Spectrum ที่สองมีค่าน้อยกว่าค่าความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนแสงสูงที่สุดจาก Spectrum ที่หนึ่งนั่นเอง นอกจากนี้จาก XRD pattern พบว่าอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่ใช้สารรักษาความเสถียรด้วย citrate จะป้องกันการเกิดคิวบิกออกไซด์ได้

จากการศึกษาวิจัยที่ผ่านมา ผู้วิจัยได้เลือกการสังเคราะห์อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงของ Khanna และคณะ เนื่องจากในการสังเคราะห์อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดง ใช้สารเคมีจำนวนน้อย โดยมีสารรักษาความเสถียรเป็น tri-sodium citrate ขั้นตอนไม่ยุ่งยาก ใช้เวลาในการสังเคราะห์สั้นเพียง 1 ชั่วโมงและได้อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่มีความเสถียรซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยชิ้นอื่น ๆ ที่ได้ศึกษา

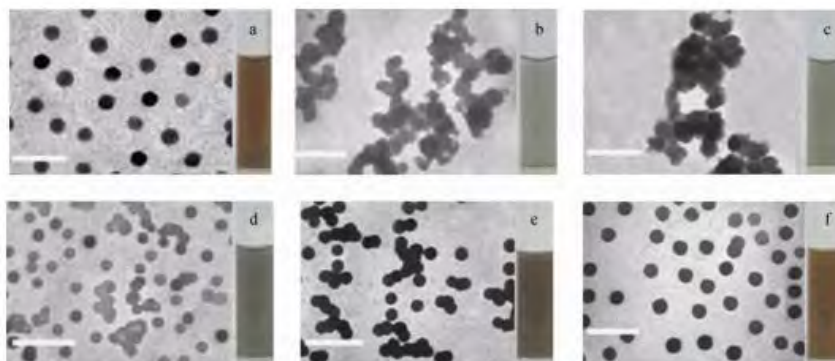
งานวิจัยที่ผ่านมาได้มีการใช้อนุภาคระดับนาโนเมตรของโลหะในการตรวจวัดปริมาณโปรตีน เช่น

Shrivastava และ Dash (5) ได้พัฒนาการตรวจวัดปริมาณโปรตีนด้วยอนุภาคนาโนเงินที่ไม่ถูกดัดแปร โดยสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินด้วยตัวรีดิวซ์และนำอนุภาคนาโนเงินที่ได้ไปผสมกับสารละลายโปรตีนและสารละลาย NaCl จะสารละลายผสมที่มีสีต่าง ๆ ดังรูปที่ 1.13 และนำสารละลายผสมไปศึกษาการกระจายตัวกันของอนุภาคระดับนาโนเมตรด้วยเทคนิค TEM ได้ผลดังรูปที่ 1.14 จากนั้นนำสารผสมไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนที่ 407 nm ค่าการดูดกลืนจะสัมพันธ์กับปริมาณโปรตีนที่อยู่ในสารละลาย โดยช่วงปริมาณโปรตีนที่ตรวจวัดได้คือ 10-80  $\mu\text{g/mL}$  ดังรูปที่ 1.15



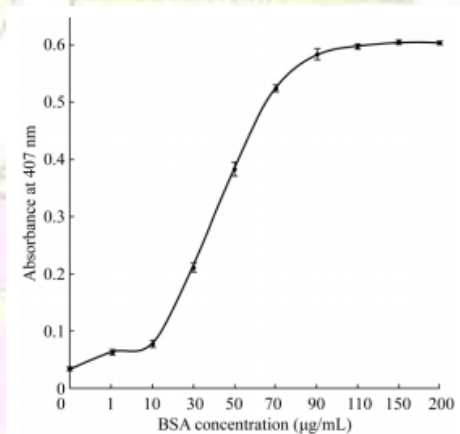
รูปที่ 1.13 ในหลอดที่ 1-10 แสดงสีของสารละลายผสมของสารละลายอนุภาคระดับนาโนเมตรของเงิน สารละลาย NaCl และสารละลาย BSA ที่มีความเข้มข้น 0, 1, 10, 30, 50, 70, 90, 110, 150 และ 250  $\mu\text{g/mL}$  ตามลำดับ และหลอดที่ 11 แสดงสีของสารละลายอนุภาคระดับนาโนเมตรของเงิน (control) (5)

พบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารละลาย BSA ในสารละลายผสมเพิ่มมากขึ้น สีของสารละลายผสมจะเปลี่ยนจากสีดำเป็นสีน้ำตาลเป็นลำดับ



รูปที่ 1.14 แสดงการกระจายตัวของอนุภาคระดับนาโนเมตรของเงิน (a) สารละลายอนุภาคระดับนาโนเมตรของเงิน (control) (b)-(f) สารละลายผสมของสารละลายอนุภาคระดับนาโนเมตรของเงิน สารละลาย NaCl และสารละลาย BSA ที่มีความเข้มข้น 0, 1, 10, 50 และ 110  $\mu\text{g/mL}$  (5)

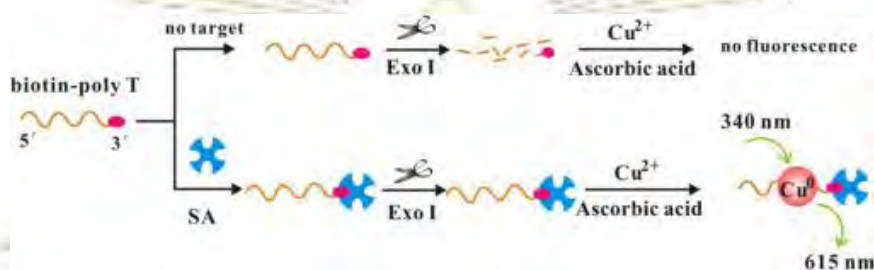
พบว่าสารละลายผสมที่ไม่มีส่วนประกอบของสารละลาย BSA (รูปที่ 1.14 b) อนุภาคระดับนาโนเมตรของเงินเกิดการรวมตัวกันจากผลของ NaCl ในขณะที่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย BSA ในสารละลายผสม อนุภาคระดับนาโนเมตรของเงินมีการกระจายตัวมากขึ้นจนกระทั่งที่ความเข้มข้น BSA เท่ากับ 110  $\mu\text{g/mL}$  (รูปที่ 1.14 f) การกระจายตัวของอนุภาคใกล้เคียงกับการกระจายตัวของสารละลายอนุภาคระดับนาโนเมตรของเงิน (รูปที่ 1.14 a) แสดงว่าโปรตีนสามารถป้องกันการรวมตัวกันของอนุภาคระดับนาโนเมตรของอนุภาคเงินที่เกิดจากผลของ NaCl ที่อยู่ในสารละลายผสมได้



รูปที่ 1.15 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ BSA และค่าการดูดกลืนแสงที่ 407 nm (5)

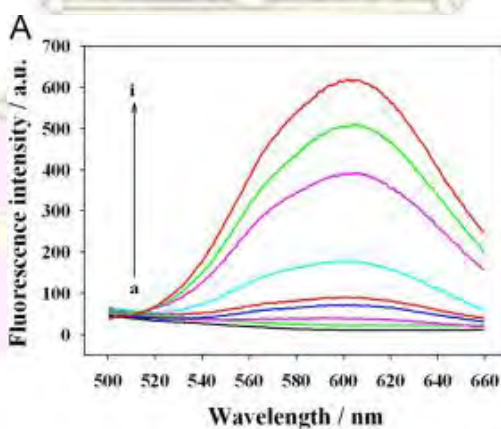
เมื่อนำค่าความเข้มข้นของ BSA ในสารละลายผสมมาวาดกราฟคู่กับค่าการดูดกลืนแสงที่ 407 nm ซึ่งเป็นค่าความยาวคลื่นอนุภาคระดับนาโนเมตรของเงินดูดกลืนสูงสุด ได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้นของ BSA 10-80  $\mu\text{g/mL}$

Wang และคณะ (7) ได้ใช้สาย poly-thymine ในการตัดแปรรูปร่างนาโนทองแดง จะได้เป็นสารเปล่งแสง และสามารถตรวจวัดปริมาณโปรตีนโดยใช้เทคนิค Fluorescence Spectroscopy ได้ในช่วงความเข้มข้น 0.5-1000 nM โดยมีหลักการในการทดลองดังรูปที่ 1.16



รูปที่ 1.16 แสดงหลักการของการทดลองของ Wang และคณะ (7)

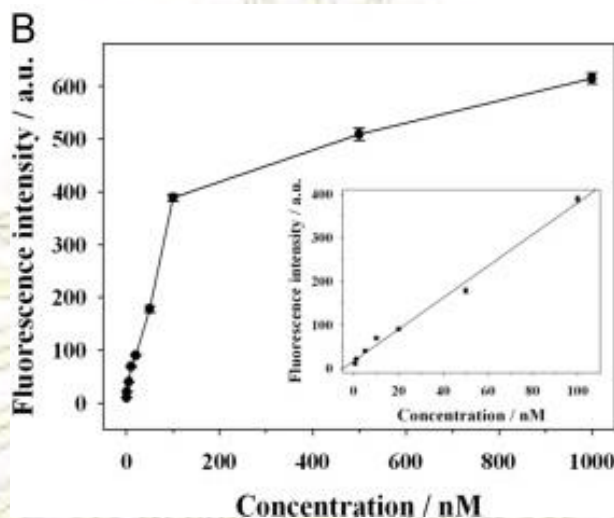
ในงานวิจัยชิ้นนี้ได้ทำการสังเคราะห์อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงโดยมี template เป็นสาย poly-thymine (poly T) โดยที่สาย poly-thymine จะมี protecting group เป็น biotin โดยเมื่อผสมสาย biotin-poly T กับสารละลาย Streptavidin (SA) biotin จะจับตัวกับ SA และเมื่อเติมเอนไซม์ Exo I Exo I จะตัดสาย poly T ที่เป็นอิสระ จะเหลือเพียงสาย poly T ที่ต่อกับ biotin และ SA จากนั้นเมื่อเติมสารต้นต่อของทองแดงและ ascorbic acid ที่เป็นตัวรีดิวซ์ จะได้อนุภาคนาโนทองแดงที่ถูกตัดด้วยสาย poly T ซึ่งเป็นสารเปล่งแสงโดยเปล่งแสงออกมาที่ 615 nm ดังนั้นปริมาณแสงที่เปล่งออกมาจะแปรผันตามปริมาณ SA ที่อยู่ในระบบ โดยเมื่อเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ SA และนำไปตรวจวัดการเปล่งด้วยเทคนิค Fluorescence Spectroscopy ต่อไป ได้ Fluorescence Spectra ดังรูปที่ 1.17



รูปที่ 1.17 แสดง Fluorescence Spectra ของสารละลายผสม biotin-T30 templated Cu NPs และ streptavidin ที่มีความเข้มข้น 0.5, 1, 5, 10, 20, 50, 100, 500 และ 1000 nM (7)



พบว่าเมื่อความเข้มข้นของ SA เพิ่มขึ้น ปริมาณแสงที่เปล่งออกมาจะเปล่งออกมามากขึ้นเช่นกัน โดยเมื่อนำความเข้มข้นของ SA ไปวาดกราฟคู่กับความเข้มแสงที่เปล่งออกมาได้ความสัมพันธ์ดังรูปที่ 1.18



รูปที่ 1.18 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ streptavidin และปริมาณแสงที่อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงเปล่งออกมา (7)

เมื่อนำค่าความเข้มข้นของ SA มาวาดกราฟคู่กับค่าความเข้มแสงที่สารเปล่งออกมาได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้นของ SA 0.5-1000 nM

จากการศึกษางานวิจัยที่ใช้อนุภาคระดับนาโนเมตรในการตรวจวัดปริมาณโปรตีน พบว่าสามารถใช้อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่ถูกตัดแปรด้วยสาย poly T แต่เป็นวิธีที่ยุ่งยากหลายขั้นตอน รวมถึงใช้สารเคมีหลายชนิด รวมถึงสาย poly T ที่มีราคาสูง และในการสังเคราะห์อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดง 1 ครั้ง สามารถตรวจวัดปริมาณโปรตีนได้เพียงค่าความเข้มข้นเดียว ในขณะที่มีงานวิจัยที่สามารถใช้อนุภาคระดับนาโนเมตรของเงินซึ่งเป็นธาตุหมู่เดียวกับทองแดง โดยไม่มีการตัดแปรไปตรวจวัดปริมาณโปรตีน ผู้วิจัยจึงมีสมมติฐานว่าสามารถนำอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่ไม่ถูกตัดแปรไปตรวจวัดปริมาณโปรตีนได้เช่นเดียวกัน โดยมีขั้นตอนที่ง่าย ใช้เวลาและสารเคมีจำนวนน้อย และสามารถวัดค่าความเข้มข้นของโปรตีนได้หลายค่าได้โดยการสังเคราะห์เพียงครั้งเดียว นอกจากนี้ยังให้ผลที่ชัดเจนแล้วสามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่าอีกด้วย

ดังนั้นผู้วิจัยจึงจะใช้การสังเคราะห์อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงจากงานวิจัยของ Khanna และคณะ เนื่องจากในการสังเคราะห์อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดง ใช้สารเคมีจำนวนน้อย โดยมีสารรักษาความเสถียรเป็น tri-sodium citrate ขั้นตอนไม่ยุ่งยาก ใช้เวลาในการสังเคราะห์ต่ำเพียง 1 ชั่วโมงและได้อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่มีความเสถียรซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยชิ้นอื่น ๆ ที่ได้ศึกษา และใช้รูปแบบการตรวจสอบปริมาณโปรตีนในสารละลายของงานวิจัยของ Shrivastava และ Dash เพราะสามารถนำอนุภาคระดับนาโนเมตรของเงินที่ไม่ถูกตัด

แปร ไปตรวจวัดปริมาณโปรตีนได้ โดยมีขั้นตอนที่ง่าย ใช้เวลาและสารเคมีจำนวนน้อย และสามารถวัดค่าความเข้มข้นของโปรตีนได้หลายค่าได้โดยการสังเคราะห์เพียงครั้งเดียว นอกจากนี้ยังให้ผลที่ชัดเจนแล้วสามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่าอีกด้วย



## บทที่ 2

### การทดลอง

#### 2.1 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

1. เครื่องชั่งดิจิตอล
2. เครื่องปั่นเหวี่ยง
3. เครื่องกวนสารละลายด้วยแท่งแม่เหล็ก
4. เครื่อง X-ray Diffractometer (XRD) รุ่น DMAX2200/Ultima+ (Rigaku)
5. เครื่อง UV-vis Spectroscopy รุ่น Agilent 8453
6. เครื่อง Transmission Microscope (TEM) รุ่น JEM-2100 (JOEL)

#### 2.2 สารเคมีและอุปกรณ์

##### 2.2.1 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองแดง

##### 2.2.1.1 สารเคมีที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองแดง

1. tri-Sodium citrate ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )
2. Copper(II) sulfate pentahydrate ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )
3. Hydrazine monohydrate ( $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ )
4. Ethanol ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ )

##### 2.2.1.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองแดง

1. Breaker 25 mL
2. Dropper
3. Magnetic Bar
4. Centrifuge tube 50 mL
5. Spatula
6. Erlenmeyer Flask 125 mL
8. Cylinder 50 mL



9. Micropipette 100-1000  $\mu\text{L}$ 

## 2.2.2 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณโปรตีนมาตรฐาน

## 2.2.2.1 สารเคมีที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณโปรตีนมาตรฐาน

1. Bovine Serum Albumin (BSA)
2. Sodium Chloride

## 2.2.2.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณโปรตีนมาตรฐาน

1. Dropper
2. Breaker 250 mL
3. Cuvette
4. Centrifuge tube 50 mL
5. Micropipette 0.5-10  $\mu\text{L}$
6. Micropipette 10-100  $\mu\text{L}$
7. Micropipette 1-10 mL
8. Measuring cylinder 100 mL

## 2.2.3 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณโปรตีนในสารตัวอย่าง

## 2.2.3.1 สารเคมีที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณโปรตีนในสารตัวอย่าง

1. นมไทย-เดนมาร์ค รสจืด
2. Sodium Chloride (NaCl)

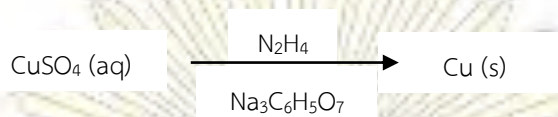
## 2.2.3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณโปรตีนในสารตัวอย่าง

1. Dropper
2. Breaker 250 mL
3. Cuvette
4. Centrifuge tube 50 mL
5. Micropipette 0.5-10  $\mu\text{L}$
6. Micropipette 1-10 mL

## 7. Measuring cylinder 100 mL

## 2.3 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองแดง

การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองแดงสามารถทำได้โดยอาศัยปฏิกิริยา Reduction ของไอออนทองแดงดังสมการ



ซึ่ง  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  9.4233 กรัม (0.032 mol) และ  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  1.000 กรัม (0.004 mol) ในขวดรูปกรวยขนาด 125 mL และบีกเกอร์ขนาด 25 mL ละลายในน้ำ DI 15 mL และ 5 mL ตามลำดับ คนสารละลาย  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$  ด้วยเครื่องกวนสารละลายด้วยแท่งแม่เหล็กที่ความเร็ว 600 rpm ที่อุณหภูมิห้อง เติมสารละลาย  $\text{CuSO}_4$  ลงในสารละลาย  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$  และคนเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติม  $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  800  $\mu\text{L}$  ลงในสารละลายผสมด้วย micropipette ขนาด 100-1000  $\mu\text{L}$  คนสารเป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อเวลาครบ 1 ชั่วโมง นำสารเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกตะกอนออกจากสารละลายที่ความเร็ว 40,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที และล้างตะกอนด้วยสารละลายผสม  $\text{H}_2\text{O}:\text{EtOH}$  1:1 และเก็บตะกอนในน้ำ DI ปริมาตร 15 mL ในหลอดเซนตริฟิวจ์ และการพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค XRD, TEM และ UV-vis Spectroscopy

## 2.4 การตรวจวัดปริมาณโปรตีนมาตรฐาน

เจือจางอนุภาคสารละลายในอัตราส่วน 0.05 mL ต่อน้ำ DI ปริมาตร 10 mL (0.085 mg/mL) และเตรียมสารละลายมาตรฐาน BSA ความเข้มข้น 10 mg/mL และสารละลาย NaCl ความเข้มข้น 0.1 g/mL และผสมสารละลายทั้ง 3 ชนิดดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ตารางปริมาตรสารละลายเพื่อการตรวจวัดปริมาณโปรตีนมาตรฐาน

Tube	สารละลาย BSA ( $\mu\text{L}$ )	น้ำ DI ( $\mu\text{L}$ )	สารละลาย NaCl (mL)	สารละลาย CuNPs (mL)
1	0.00	1000.00	1.00	8.00
2	1.00	999.00		
3	10.00	990.00		
4	20.00	980.00		
5	30.00	970.00		
6	40.00	960.00		
7	50.00	950.00		
8	60.00	940.00		
9	70.00	930.00		

10	80.00	920.00	1.00	8.00
11	90.00	910.00		
12	100.00	900.00		
Control	-	2,000.00	-	8.00

บ่มสารละลายผสมเป็นเวลา 1 ชั่วโมงและตรวจวัดการดูดกลืนแสงของสารด้วยเครื่อง UV-vis Spectroscopy และนำค่าการดูดกลืนของสารที่ความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนมากที่สุด ( $\lambda_{max}$ ) ของ Control มาวาดกราฟพร้อมกับความเข้มข้นของ BSA เพื่อความสัมพันธ์ต่อไป

## 2.5 การตรวจวัดปริมาณโปรตีนในสารตัวอย่าง

เจือจางอนุภาคสารละลายในอัตราส่วน 0.05 mL ต่อน้ำ DI ปริมาตร 10 mL (0.085 mg/mL) และเตรียมสารละลาย NaCl ความเข้มข้น 0.1 g/mL และผสมสารละลายทั้ง 2 ชนิดกับสารตัวอย่าง (นม) ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ตารางปริมาตรสารละลายเพื่อการตรวจวัดปริมาณโปรตีนในสารตัวอย่าง

Tube	นม ( $\mu$ L)	น้ำ DI ( $\mu$ L)	สารละลาย NaCl (mL)	สารละลาย CuNPs (mL)
1	0.00	1000.00	1.00	8.00
2	0.75	999.25		
3	1.50	998.50		
4	2.25	997.75		
5	3.00	997.00		
6	4.00	996.00		
7	5.00	995.00		
8	6.00	994.00		
9	8.00	992.00		
10	10.00	990.00		
Control	-	2,000.00	-	8.00

บ่มสารละลายผสมเป็นเวลา 1 ชั่วโมงและตรวจวัดการดูดกลืนแสงของสารด้วยเครื่อง UV-vis Spectroscopy และนำค่าการดูดกลืนของสารที่ความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนมากที่สุด ( $\lambda_{max}$ ) ของ Control มาวาดกราฟพร้อมกับปริมาตรของนมเพื่อความสัมพันธ์ต่อไป



## 2.6 การศึกษาผลของจำนวนอนุภาคต่อการตรวจวัดโปรตีน

เจือจางอนุภาคสารละลายในอัตราส่วน 0.10 mL ต่อน้ำ DI ปริมาตร 10 mL (0.17 mg/mL) และเตรียมสารละลายมาตรฐาน BSA ความเข้มข้น 10 mg/mL และสารละลาย NaCl ความเข้มข้น 0.1 g/mL และผสมสารละลายทั้ง 3 ชนิดดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ตารางปริมาตรสารละลายเพื่อศึกษาผลของจำนวนอนุภาคต่อการตรวจวัดโปรตีน

Tube	นม ( $\mu\text{L}$ )	น้ำ DI ( $\mu\text{L}$ )	สารละลาย NaCl (mL)	สารละลาย CuNPs (mL)
1	0.00	1000.00	1.00	8.00
2	10.00	990.00		
3	20.00	980.00		
4	30.00	970.00		
5	40.00	960.00		
6	50.00	950.00		
7	60.00	940.00		
8	70.00	930.00		
9	80.00	920.00		
10	90.00	910.00		
11	100.00	900.00		
Control	-	2,000.00	-	8.00

บ่มสารละลายผสมเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ให้เจือจางสารละลายผสมโดยการเติมน้ำ DI เข้าสู่ระบบ 10 mL และตรวจวัดการดูดกลืนแสงของสารด้วยเครื่อง UV-vis Spectroscopy และนำค่าการดูดกลืนของสารที่ความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนมากที่สุด ( $\lambda_{\text{max}}$ ) ของ Control มาวาดกราฟร่วมกับความเข้มข้นของ BSA เพื่อดูความสัมพันธ์ต่อไป

### บทที่ 3

#### ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง

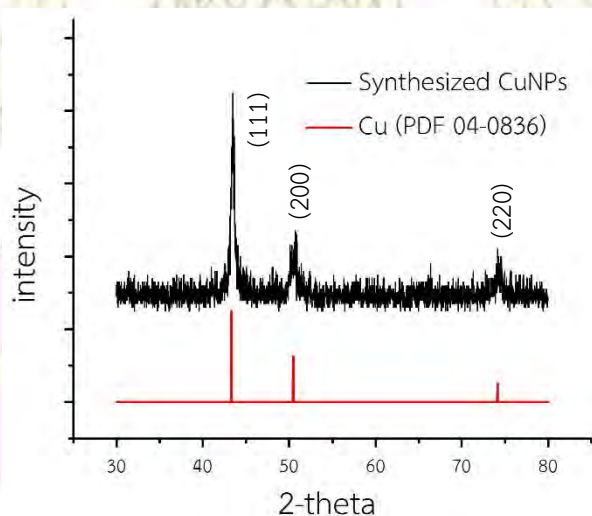
งานวิจัยนี้ได้ทำการสังเคราะห์อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงเพื่อใช้ในการตรวจวัดปริมาณโปรตีนสำหรับโปรตีนมาตรฐาน BSA และโปรตีนที่อยู่ในสารตัวอย่างนม และได้ทำการศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องได้แก่ ปริมาณต่ำสุดของโปรตีน BSA และนมที่สามารถตรวจวัดได้ ช่วงที่เป็นเส้นตรงของการตรวจวัดโปรตีน และผลของจำนวนอนุภาคต่อการตรวจวัดโปรตีน

#### 3.1 การพิสูจน์เอกลักษณ์อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดง

จากการสังเคราะห์อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงในขั้นตอนที่ 2.3.1 นำอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่ได้มาทำการพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเครื่องมือ X-ray Diffraction (XRD) เพื่อหาโครงสร้างของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดง Transmission Electron Microscope (TEM) เพื่อหาขนาดและรูปร่างของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่ได้และ UV-vis Spectroscopy เพื่อตรวจสอบช่วงการดูดกลืนแสงของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงจากการสังเคราะห์

##### 3.1.1 X-ray Diffraction (XRD)

นำอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่ได้จากการสังเคราะห์มาทำการบดสารตัวอย่างให้ละเอียดจะมีลักษณะคล้ายแป้งเพื่อนำส่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค X-ray Diffraction (XRD) รุ่น DMAX2200/Ultima+ (Rigaku) โดยใช้สภาวะ Cu K radiation ( $1.5418 \text{ \AA}$  source 40 kV, 30 mA) วัดที่อุณหภูมิ  $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$  ครึ่งละ  $0.02^{\circ}$  ในช่วง  $30^{\circ}$ - $80^{\circ}$  ต่อไป

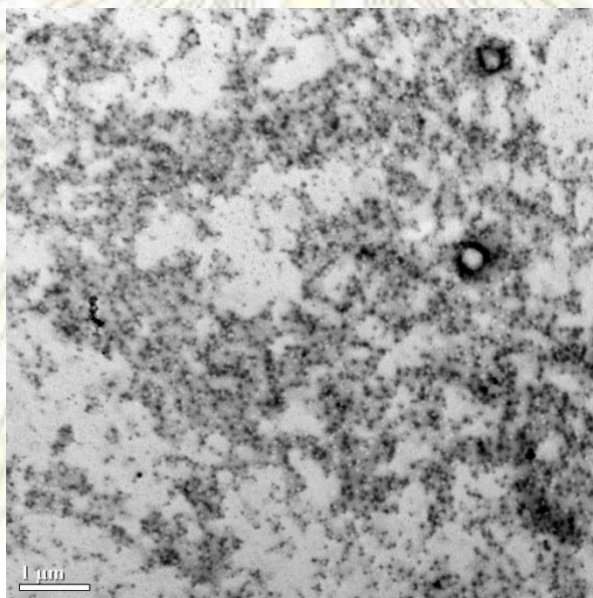


รูปที่ 3.1 แสดง X-ray Diffraction pattern ของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงและทองแดงมาตรฐาน (PDF 04-0836) จากเครื่อง X-ray powder diffractometer

จากรูปที่ 3.1 แสดง XRD pattern ของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดง จากเครื่อง X-ray powder diffractometer ซึ่งวิเคราะห์ในช่วง 2-theta ระหว่าง 30 – 80 องศา พบว่ามี XRD pattern ตรงกับ PDF 04-0836 ซึ่งเป็นไฟล์มาตรฐานของทองแดง จึงสามารถบอกได้ว่าอนุภาคนาโนที่ผู้วิจัยสังเคราะห์ขึ้นนั้นเป็นอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงตามที่ต้องการ

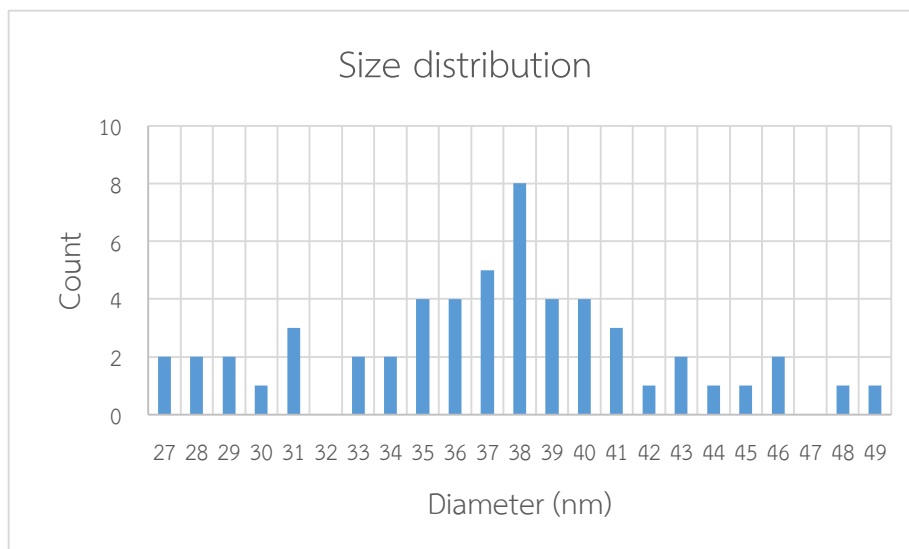
### 3.1.2 Transmission Electron Microscope (TEM)

นำอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่ได้จากการสังเคราะห์มาเจือจางด้วยน้ำ DI และ sonicate เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นหยดสารลงบน Copper Grid เพื่อนำส่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Transmission Electron Microscope (TEM) รุ่น JEM-2100 (JOEL) ต่อไป



รูปที่ 3.2 แสดงการกระจายตัวของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดง จากเครื่อง Transmission Electron Microscope ที่กำลังขยาย 2,500 เท่า



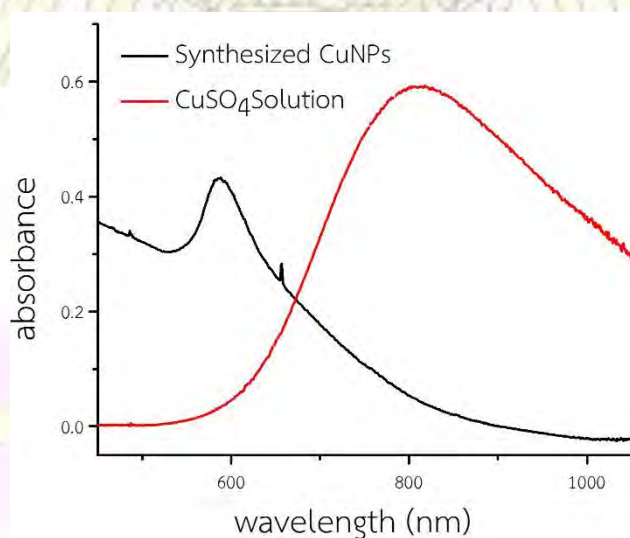


รูปที่ 3.3 แสดงการกระจายตัวของขนาดของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดง

จากรูปที่ 3.2 แสดงการกระจายตัวของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดง จากเครื่อง Transmission Electron Microscope พบว่าอนุภาคแม่เหล็กขนาดนาโนเมตรที่เตรียมขึ้นนี้มีการกระจายตัว และนำภาพไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม ImageJ ได้ผลการวิเคราะห์ดังภาพที่ 3.3 ซึ่งพบการกระจายตัวของขนาดของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงเท่ากับ  $38 \pm 5$  nm

### 3.1.3 UV-vis Spectroscopy

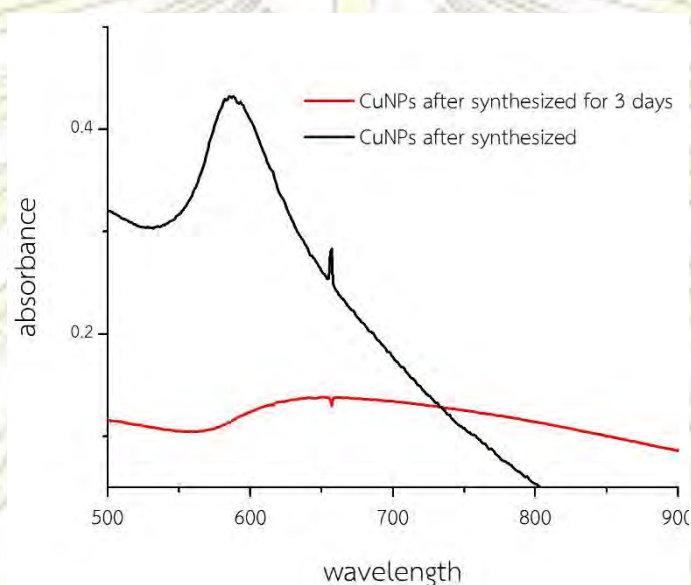
นำอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่ได้จากการสังเคราะห์มาเจือจางด้วยน้ำ DI จนเป็นสารละลายสีฟ้า เพื่อนำส่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค UV-vis Spectroscopy ต่อไป



รูปที่ 3.4 แสดง Spectra การดูดกลืนแสงในช่วง UV-visible ของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงและสารละลาย CuSO<sub>4</sub> จากเครื่อง UV-vis spectrophotometer

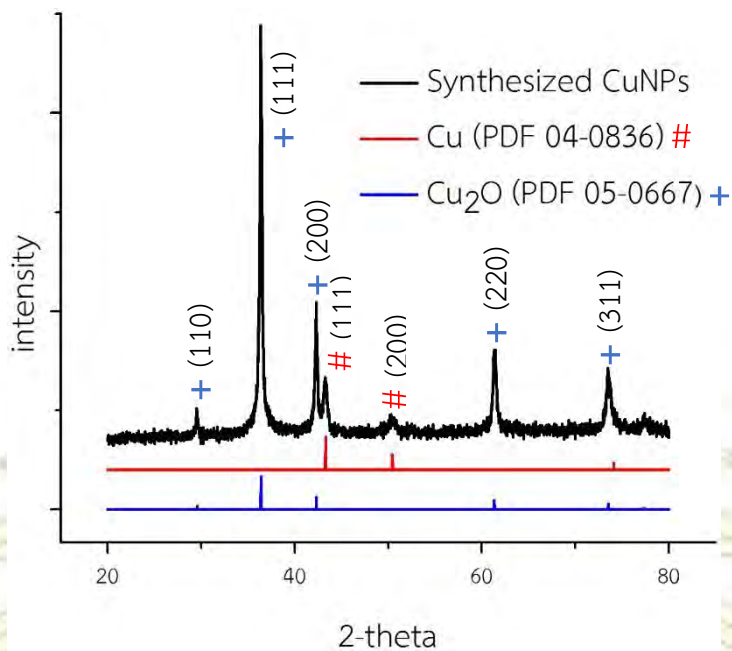
จากรูปที่ 3.4 แสดงการดูดกลืนแสงในช่วง UV-vis ของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดง จากเครื่อง UV-vis spectrometer พบว่าอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงดูดกลืนแสงในช่วง UV-visible มากที่สุดที่ความยาวคลื่น 592 nm ซึ่งอยู่ในช่วงการดูดกลืนของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดง (550-600 nm) (25) จึงบ่งชี้ได้ว่าอนุภาคนาโนที่ผู้วิจัยสังเคราะห์ขึ้นนั้นเป็นอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงตามที่ต้องการ

ผู้วิจัยศึกษาความเสถียรของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่สังเคราะห์ โดยนำอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่เก็บไว้ในน้ำ DI เป็นเวลา 3 วัน มาเจือจางด้วยน้ำ DI จนเป็นสารละลายสีฟ้า เพื่อนำส่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค UV-vis Spectroscopy ต่อไป



รูปที่ 3.5 แสดง Spectra การดูดกลืนแสงในช่วง UV-visible ของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงหลังจากการสังเคราะห์ และหลังจากเก็บไว้เป็นเวลา 3 วัน จากเครื่อง UV-vis spectrophotometer

จากรูปที่ 3.5 พบว่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงในช่วงความยาวคลื่น 550-600 nm ลดลง ซึ่งเป็นช่วงความยาวคลื่นที่อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงดูดกลืนแสง จึงสรุปได้ว่าอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงสูญเสียความเสถียร ผู้วิจัยจึงนำอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่เก็บไว้ในน้ำ DI ไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD ต่อไป



รูปที่ 3.6 แสดง X-ray Diffraction pattern ของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่เก็บไว้เป็นเวลา 11 วัน ทองแดงมาตรฐาน (PDF 04-0836) และออกไซด์ของทองแดง (PDF 05-0667) จากเครื่อง X-ray powder diffractometer

จากรูปที่ 3.6 พบว่าอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่เก็บไว้ในน้ำ DI เกิดปฏิกิริยากับ  $O_2$  ที่อยู่ในอากาศที่มีอยู่ในหลอดเซนตริฟิวจ์เกิดเป็น  $Cu_2O$  จึงทำให้การดูดกลืนแสงของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่เก็บไว้ลดลง แสดงว่าอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงไม่สามารถเก็บไว้เป็นเวลานาน จึงต้องทำการสังเคราะห์ก่อนทำการตรวจวัดโปรตีนทุกครั้ง

### 3.2 การตรวจวัดปริมาณโปรตีนมาตรฐาน BSA

จากการเตรียมสารละลายผสมอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดง สารละลาย NaCl และสารละลาย BSA ในอัตราส่วนต่าง ๆ ที่ทำในขั้นตอน 2.4 เมื่อบ่มสารเป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่าสีของสารละลายผสมเป็นดังรูปที่ 3.7

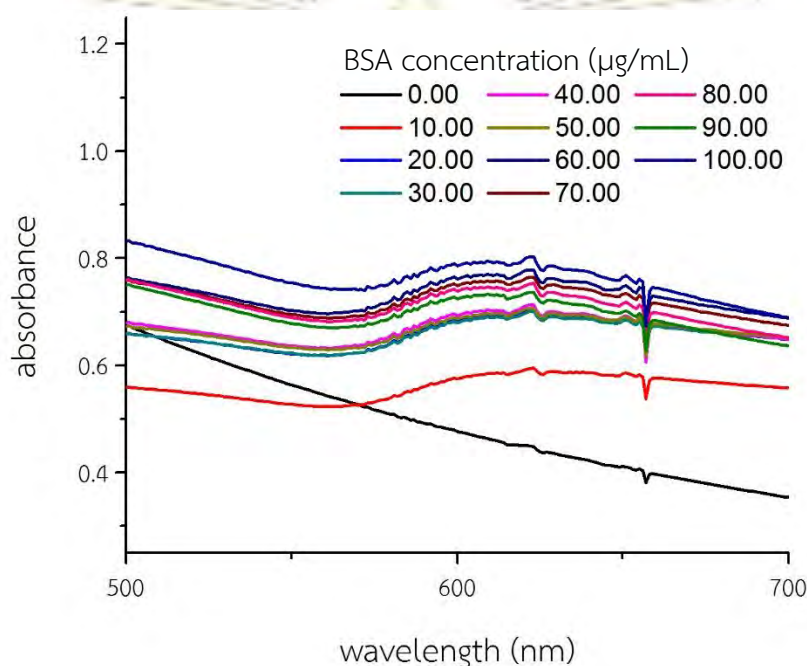


รูปที่ 3.7 แสดงของสีสารละลายผสมเมื่อเวลาบ่มครบ 1 ชั่วโมง โดยสารละลายผสมมีความเข้มข้น BSA 0, 5, 10, 15 และ 20  $\mu\text{g/mL}$  ตามลำดับ



จากรูปสารละลายผสมที่ไม่มี BSA พบว่าสารละลายผสมเมื่อผ่านการบ่มเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จะเปลี่ยนสีสารละลายจากสีน้ำเงินเข้ม (สีของ Control) เป็นสารละลายสีเหลือง ในขณะที่สารละลายผสมที่มี BSA ผสมอยู่ด้วยจะมีสีของสารละลายใกล้เคียงกับสีของ Control มากขึ้นตามปริมาณของ BSA ที่อยู่ในสารละลายผสม

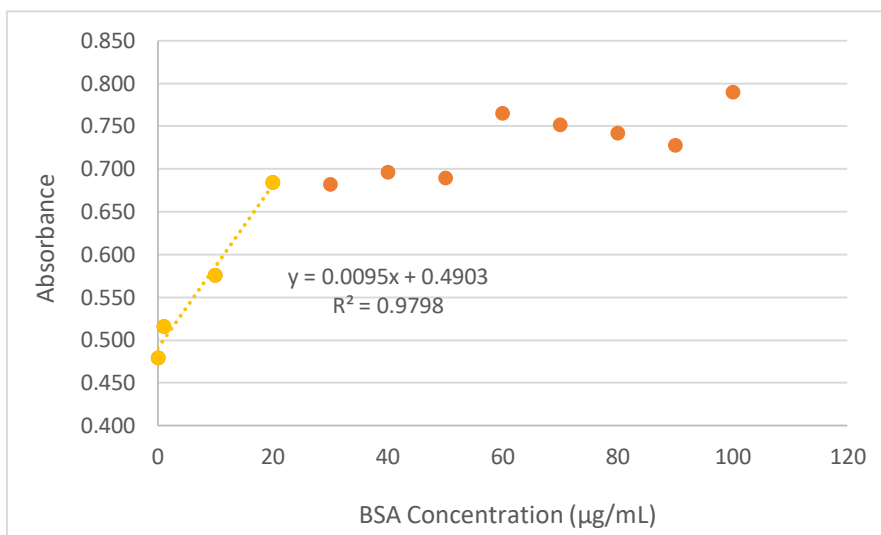
เมื่อนำสารละลายผสมไปวัดการดูดกลืนแสงในช่วง UV-visible ด้วยเครื่อง UV-vis Spectrophotometer ได้ Spectra ดังรูปที่ 3.8



รูปที่ 3.8 แสดง Spectra การดูดกลืนแสงในช่วง UV-visible ของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงหลังจากการบ่มสารกับ สารละลาย BSA และ NaCl เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากเครื่อง UV-vis Spectrophotometer

พบว่า Spectra การดูดกลืนแสงของสารละลายผสมที่ไม่มี BSA ผสมอยู่ พบว่าการดูดกลืนแสงในช่วงการดูดกลืนของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงจะหายไป ในขณะที่เมื่อความเข้มข้นของ BSA ในสารละลายผสมมากขึ้น ค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงจะมากขึ้นและเริ่มคงที่เมื่อความเข้มข้นของ BSA เพิ่มมากขึ้น

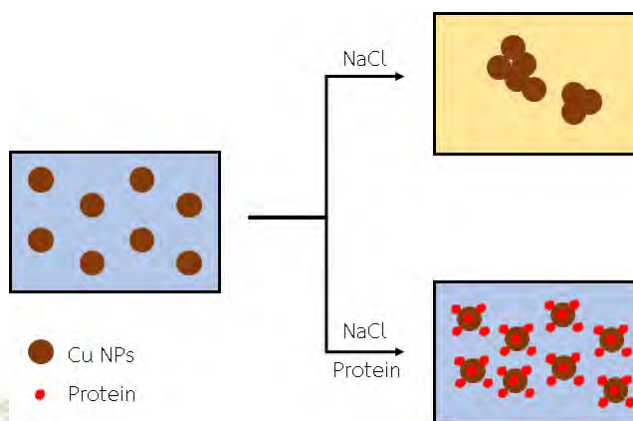
เมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนมากที่สุดของสารละลายอนุภาค Control มาวาดกราฟร่วมกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน BSA ได้ความสัมพันธ์ดังรูปที่ 3.9



รูปที่ 3.9 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ BSA ในสารละลายผสม และ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 599 nm

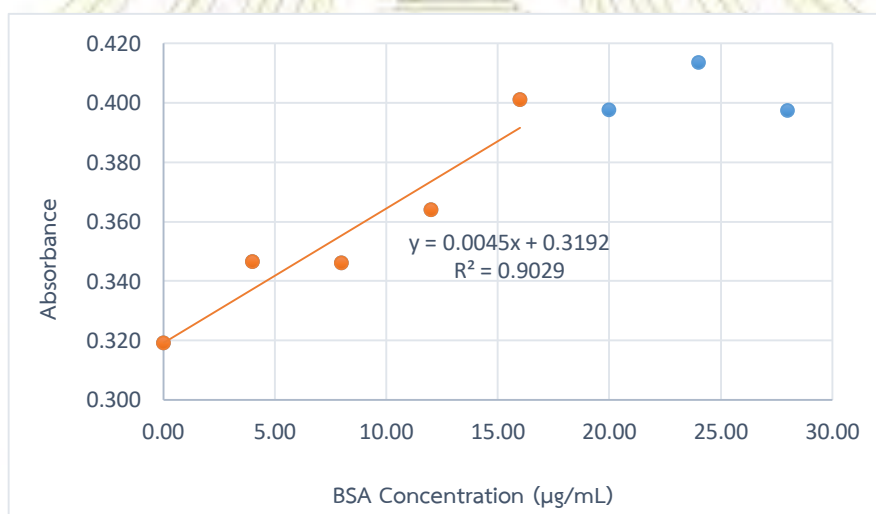
จากกราฟพบว่าค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่ความยาวคลื่น 599 nm เพิ่มขึ้นในลักษณะที่เป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้นของ BSA 0-20 µg/mL และเมื่อความเข้มข้นของ BSA มากกว่า 20 µg/mL ค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่ความยาวคลื่น 599 nm ไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก

จากการทดลองทำให้คาดได้ว่า เมื่ออนุภาคนาโนทองผสมกับสารละลายมาตรฐาน BSA และสารละลาย NaCl อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงจะดูดซับโปรตีน BSA ไว้ที่ผิวของอนุภาคด้วยแรงทางไฟฟ้าระหว่างอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงและโปรตีน BSA รวมถึงสมบัติกรด-เบสแบบฮาร์ด-ซอฟต์ (Hard Soft Acid Base) ของทองแดงและอะตอมบนโปรตีน แต่เนื่องจากปริมาณโปรตีนมีน้อยกว่าอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดง ทำให้อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่ไม่ได้ดูดซับโปรตีนไว้จะเป็นอนุภาคทองแดงอิสระ อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงอิสระจะได้รับผลของ NaCl ที่อยู่ในสารละลายจากกระบวนการ Salting out เนื่องจากเมื่อ NaCl อยู่ในสารละลายจะแตกตัวเป็น  $\text{Na}^+$  และ  $\text{Cl}^-$  ทำให้โมเลกุลน้ำที่ล้อมรอบอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงลดน้อยลงและทำให้อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงเกิดการรวมตัวกัน นอกจากนี้อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงถูกรักษาความเสถียรด้วย citrate ทำให้มีประจุที่เป็นลบ เมื่ออยู่ในสารละลายผสมที่มี  $\text{Na}^+$  ที่เป็นประจุบวก  $\text{Na}^+$  จะดึงดูดอนุภาคเข้ามารวมกันและทำให้อนุภาคเกิดการรวมตัวกัน ดังรูปที่ 3.10 ส่งผลให้ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 599 nm ซึ่งเป็นความยาวคลื่นสูงสุดที่อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่ผู้วิจัยได้สังเคราะห์ขึ้นดูดกลืนสูงที่สุด ลดลงเหลือเพียงการดูดกลืนแสงของอนุภาคที่ถูกรักษาความเสถียรด้วยโปรตีน BSA จึงสรุปได้ว่าค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่วัดได้จะขึ้นอยู่กับปริมาณโปรตีนในสารละลาย



รูปที่ 3.10 แผนภาพแสดงกลไกที่ใช้อธิบายการเปลี่ยนแปลงการกระจายอนุภาคซึ่งส่งผลต่อการดูดกลืนแสงของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดง

ผู้วิจัยจึงได้ทำการวิเคราะห์ซ้ำอีกครั้งในช่วง 0-28  $\mu\text{g}/\text{mL}$  และเมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 599 nm มาวาดกราฟคู่กับความเข้มข้นของ BSA ได้ความสัมพันธ์ดังรูปที่ 3.11



รูปที่ 3.11 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ BSA ในสารละลายผสม และ ค่าการดูดกลืนแสงที่ 599 nm ในช่วงความเข้มข้น BSA 0-28  $\mu\text{g}/\text{mL}$

พบว่าในช่วงความเข้มข้น BSA 0-16  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ได้ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ BSA ในสารละลายและค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 599 nm เป็นความสัมพันธ์แบบเส้นตรงที่มีค่า  $R^2 = 0.9029$  โดยค่า  $R^2$  ที่ลดลง เมื่อเทียบกับรูปที่ 3.8 เกิดจากการใช้ micro pipette หลายขนาดในการวิเคราะห์ ซึ่งทำให้มีค่าความคลาดเคลื่อนเพิ่มมากขึ้น และมีสมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ BSA และค่าการดูดกลืนแสงเป็น  $y = 0.0045x + 0.3192$  และค่าความเข้มข้นสูงสุดที่ตรวจวัดได้คือที่ความเข้มข้น BSA 16  $\mu\text{g}/\text{mL}$



### 3.3 การตรวจวัดปริมาณโปรตีนจากนมในสารละลายตัวอย่าง

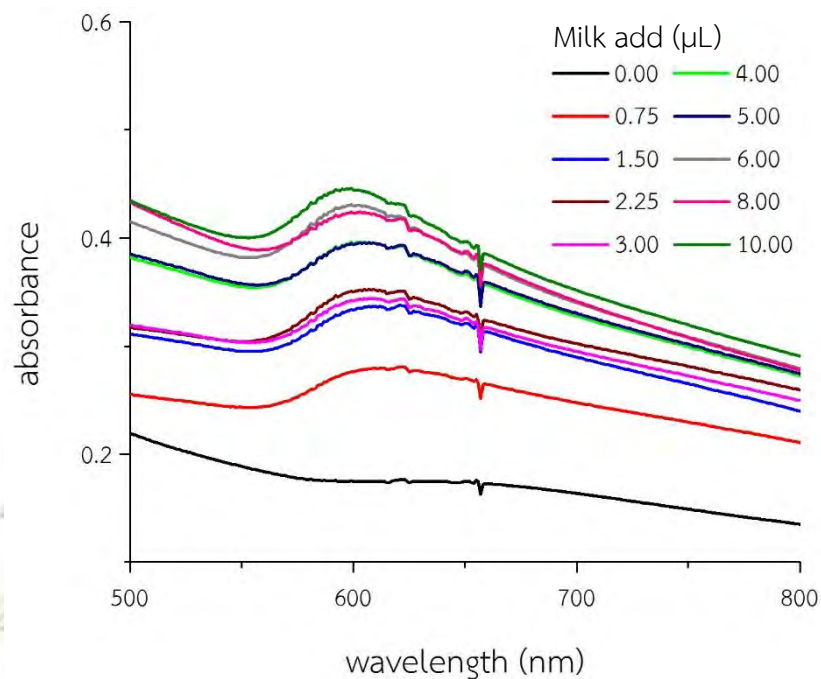
จากการเตรียมสารละลายผสมอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดง สารละลาย NaCl และ สารละลายตัวอย่างนมในปริมาตรต่าง ๆ ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้ใช้นมไทย-เดนมาร์ก รสจืด เป็นสารละลายนมตัวอย่าง ที่ทำในขั้นตอน 2.5 เมื่อบ่มสารเป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่าสีของสารละลายผสมเป็นดังรูปที่ 3.12



รูปที่ 3.12 แสดงของสีสารละลายผสมเมื่อเวลาบ่มครบ 1 ชั่วโมง โดยสารละลายผสมมีนมผสมอยู่ 0.00, 0.80, 1.60, 2.40, 3.20, 4.00  $\mu\text{L}$  ตามลำดับ

จากรูปสารละลายผสมที่ไม่มีนมผสมอยู่ พบว่าสารละลายผสมเมื่อผ่านการบ่มเป็นเวลา 1 ชั่วโมงจะเปลี่ยนสีสารละลายจากสีน้ำเงินเข้ม (สีของ Control) เป็นสารละลายสีเหลือง ในสารละลายที่มีนมผสมอยู่ 0.80  $\mu\text{L}$  จะเป็นสารละลายสีเขียวซึ่งคาดว่าเป็นสีผสมกันระหว่างสีเหลืองของสารละลายที่ไม่มีโปรตีนอยู่และสีน้ำเงินของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดง ในขณะที่สารละลายผสมที่มีนมผสมอยู่ 1.60-4.00  $\mu\text{L}$  จะมีสีของสารละลายใกล้เคียงกับสีของ Control มากขึ้นตามปริมาณของนมที่อยู่ในสารละลายผสม

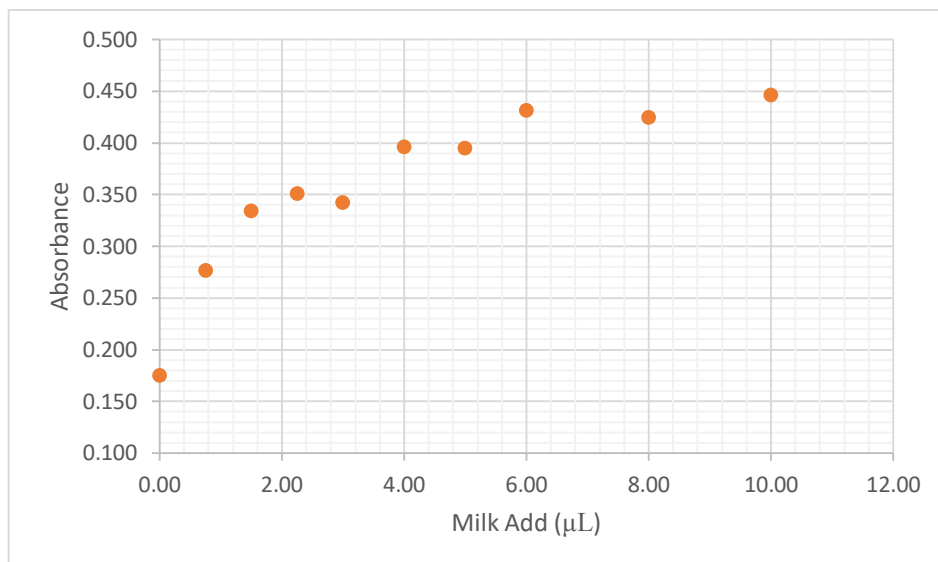
เมื่อนำสารละลายผสมไปวัดการดูดกลืนแสงในช่วง UV-visible ด้วยเครื่อง UV-vis Spectrophotometer ได้ Spectra ดังรูปที่ 3.13



รูปที่ 3.13 แสดง Spectra การดูดกลืนแสงในช่วง UV-visible ของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงหลังจากการป้อนสารละลายนมและ NaCl เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากเครื่อง UV-vis Spectrophotometer

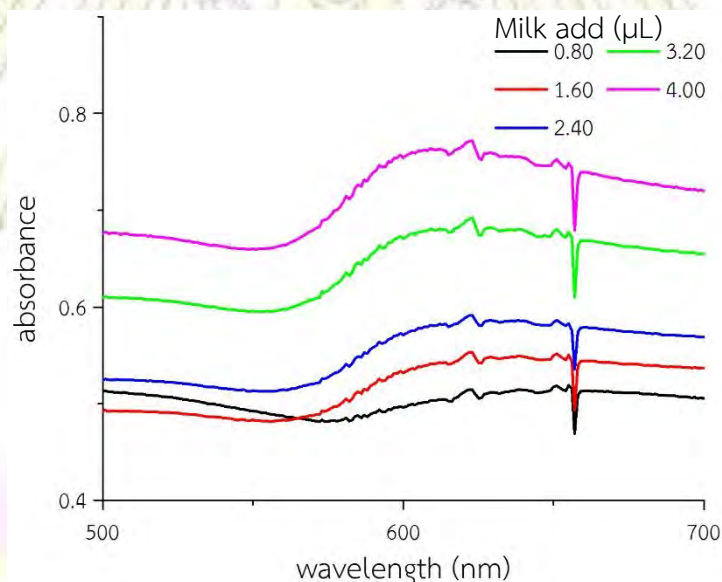
จาก Spectra การดูดกลืนแสงของสารละลายผสมที่ไม่มีนมผสมอยู่ พบว่าการดูดกลืนแสงในช่วงการดูดกลืนของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงจะหายไป ในขณะที่เมื่อปริมาณของนมในสารละลายผสมมากขึ้น ค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงจะมากขึ้นและเริ่มคงที่เมื่อปริมาณของนมในสารละลายผสมเพิ่มมากขึ้น

เมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนมากที่สุดของสารละลายอนุภาคเพียงอย่างเดียว (Control) มาวาดกราฟรวมกับปริมาณของนมที่มีอยู่ในระบบ ได้ความสัมพันธ์ดังรูปที่ 3.14



รูปที่ 3.14 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณนมในสารละลายผสม และ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 599 nm

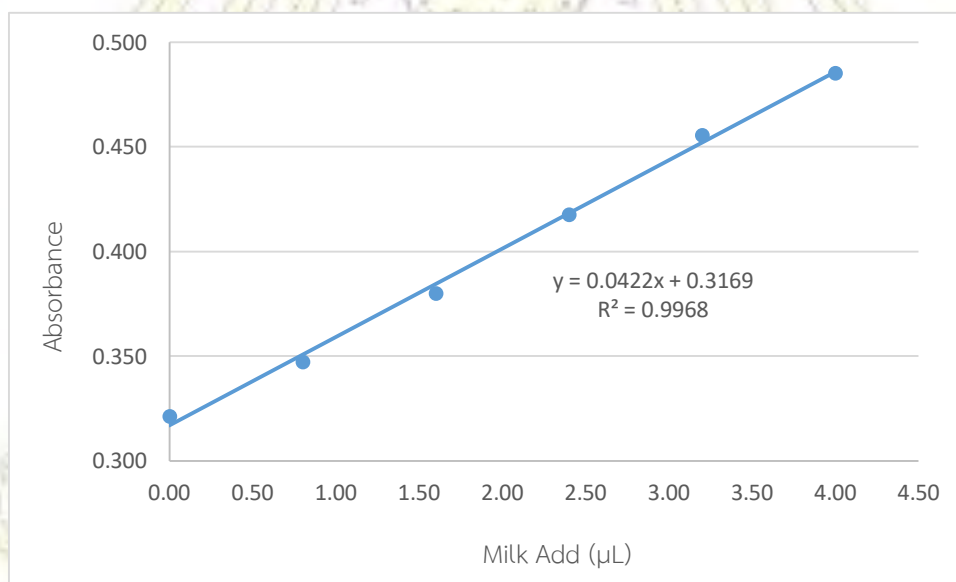
จากกราฟพบว่าค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่ความยาวคลื่น 599 nm เพิ่มขึ้นในช่วงปริมาณของนม 0-4  $\mu\text{L}$  และเมื่อปริมาณของนมมากกว่า 4  $\mu\text{L}$  ค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่ความยาวคลื่น 599 nm ไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก ผู้วิจัยจึงทำการศึกษาซ้ำอีกครั้งในช่วงปริมาณนม 0.00-4.00  $\mu\text{L}$  ได้ Spectra ดังรูปที่ 3.15



รูปที่ 3.15 แสดง Spectra การดูดกลืนแสงในช่วง UV-visible ของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงหลังจากการบ่มสารกับนมในช่วง 0.00-4.00  $\mu\text{L}$  และ NaCl เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากเครื่อง UV-vis Spectrophotometer



จากการทดลองทำให้คาดได้ว่า เมื่ออนุภาคนาโนทองผสมกับสารละลายตัวอย่าง (นม) และสารละลาย NaCl อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงจะดูดซับโปรตีนที่อยู่ในนมไว้ที่ผิวของอนุภาคด้วยแรงทางไฟฟ้าระหว่างอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงและโปรตีน รวมถึงสมบัติกรด-เบสแบบฮาร์ด-ซอฟต์ (Hard Soft Acid Base) ของทองแดงและอะตอมบนโปรตีน เช่นเดียวกับโปรตีน BSA แต่เนื่องจากโปรตีนที่อยู่ในนมส่วนใหญ่เป็นโปรตีน Casien ที่มีอยู่ถึง 82% ซึ่งมีองค์ประกอบแตกต่างจากโปรตีน BSA จึงส่งผลต่อการดูดซับโปรตีนบนผิวของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดง ทำให้ผลการทดลองที่มีแตกต่างกับโปรตีน BSA นอกจากนี้ปริมาณโปรตีนในนมมีน้อยกว่าอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดง ทำให้อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่ไม่ได้ดูดซับโปรตีนไว้จะเป็นอนุภาคทองแดงอิสระ อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงอิสระจะได้รับผลของ NaCl ที่อยู่ในสารละลายเนื่องจากเมื่อ NaCl อยู่ในสารละลายจะแตกตัวเป็น  $\text{Na}^+$  และ  $\text{Cl}^-$  ทำให้โมเลกุลน้ำที่ล้อมรอบอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงลดน้อยลงและทำให้อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงเกิดการรวมตัวกัน ส่งผลให้ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 599 nm ซึ่งเป็นความยาวคลื่นสูงสุดที่อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่ผู้วิจัยได้สังเคราะห์ขึ้นดูดกลืนแสงสูงสุด ลดลงเหลือเพียงการดูดกลืนแสงของอนุภาคที่ถูกรักษาความเสถียรด้วยโปรตีนในนม จึงสรุปได้ว่าค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่วัดได้จะขึ้นอยู่กับปริมาณของนมในสารละลายที่สัมพันธ์กับปริมาณโปรตีนในสารละลาย ผู้วิจัยจึงได้ทำการวิเคราะห์ซ้ำอีกครั้งในช่วงปริมาตรนม 0.00-4.00  $\mu\text{L}$  และเมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 599 nm มาวาดกราฟคู่กับปริมาตรของนม ได้ความสัมพันธ์ดังรูป 3.16

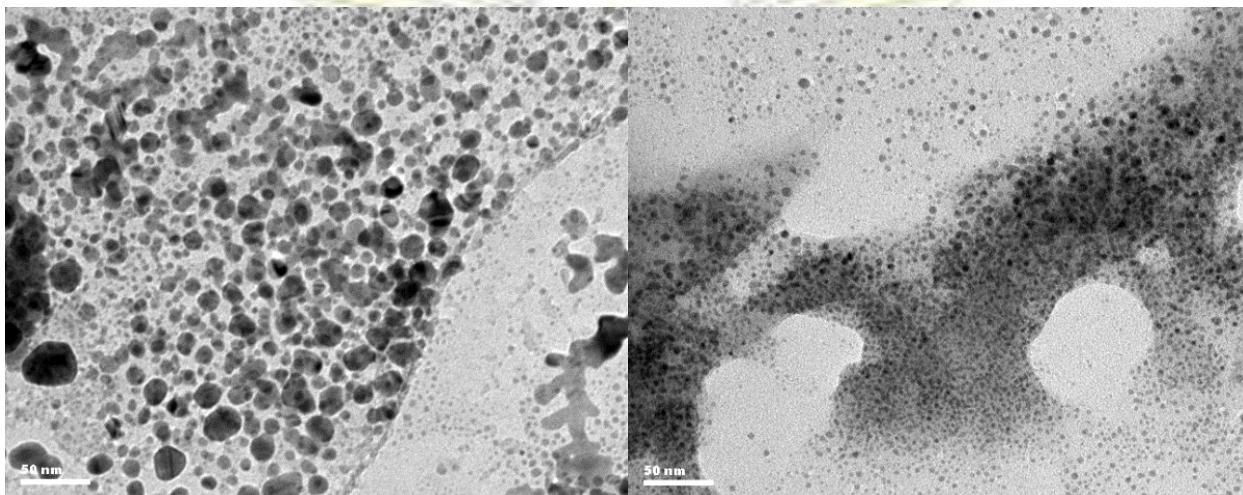


รูปที่ 3.16 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรนมในสารละลายผสม และ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 599 nm ในช่วงปริมาตรนม 0.00-4.00  $\mu\text{L}$

พบว่าในช่วงปริมาตรนม 0.00-4.00  $\mu\text{L}$  ได้ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรนมในสารละลายผสมและค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 599 nm เป็นความสัมพันธ์แบบเส้นตรงที่มีค่า

$R^2 = 0.9968$  และมีสมการเป็น  $y = 0.0422x + 0.30169$  โดยในนมที่นำมาวิเคราะห์มีโปรตีน 10 g ในนม 250 mL (ตามข้อมูลทางโภชนาการ) ดังนั้นช่วงปริมาตรนม 0.00-4.00  $\mu\text{L}$  คิดเป็นโปรตีน 0.00-16.00  $\mu\text{g/mL}$

เพื่อยืนยันสมมติฐานว่าการเปลี่ยนแปลงสีและการดูดกลืนแสงของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่ความเข้มข้นของนมแตกต่างกันเกิดจากการเปลี่ยนแปลงลักษณะการกระจายตัวของอนุภาค ผู้วิจัยได้ส่งตัวอย่างที่มีปริมาตรนม 0.00 และ 4.00  $\mu\text{L}$  เพื่อดูการกระจายตัวของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงด้วยเทคนิค TEM ดังรูปที่ 3.17

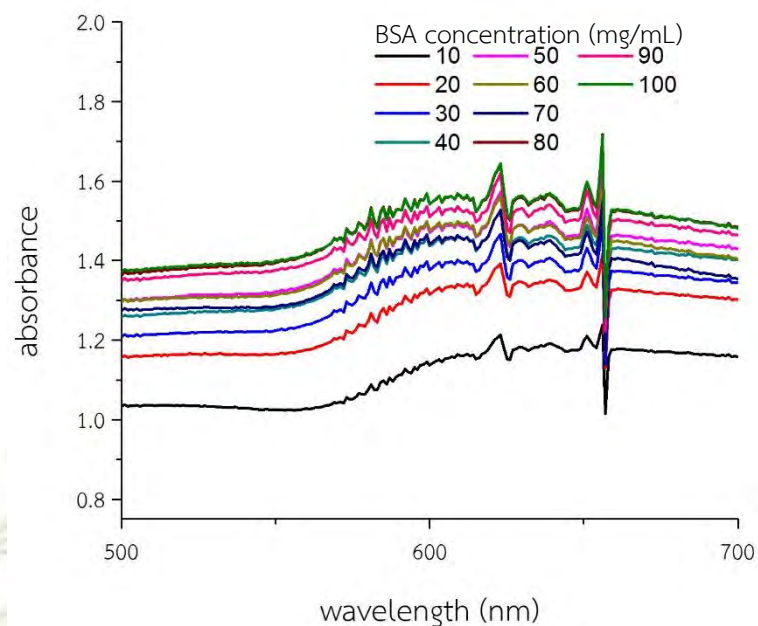


รูปที่ 3.17 แสดงการกระจายตัวของอนุภาคนาโนทองแดงในสารละลายผสมที่มีนม ปริมาตร 0.00 และ 4.00  $\mu\text{L}$  ตามลำดับ

พบว่าอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงในสารละลายผสมที่ไม่มีนม อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงจะเกิดการรวมตัวกันมีขนาดใหญ่ขึ้น เมื่อเทียบกับอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่อยู่ในสารละลายผสมที่มีนมผสมอยู่ 4.00  $\mu\text{L}$  ที่มีอนุภาคขนาดเล็กและมีการกระจายตัวมากกว่า สอดคล้องกับสมมติฐานและการเปลี่ยนแปลงสัญญาณการดูดกลืนแสงที่ตรวจวัดข้างต้น

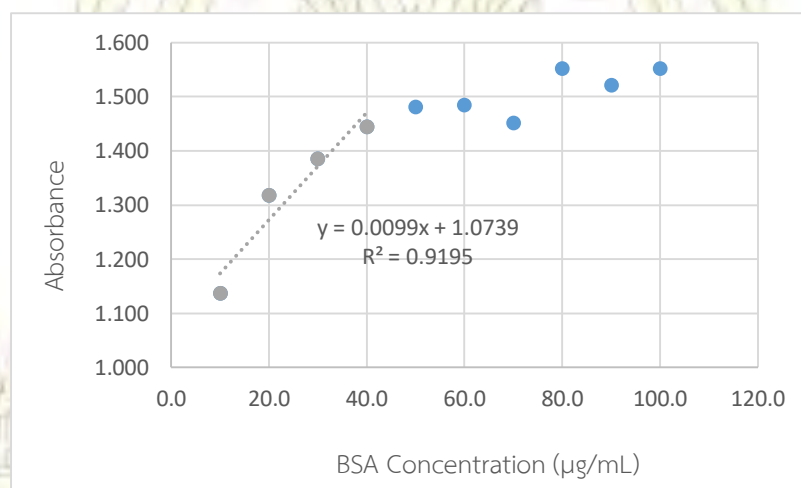
### 3.4 การศึกษาผลของจำนวนอนุภาคต่อการตรวจวัดโปรตีน

จากการเตรียมสารละลายผสมอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดง สารละลาย NaCl และสารละลาย BSA ที่ทำในขั้นตอน 2.6 โดยในสารละลายผสมจะมีจำนวนอนุภาคเป็น 2 เท่าของการทดลองขั้นที่ 2.4 และเมื่อบ่มสารเป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำสารละลายผสมที่เจือจางเรียบร้อยแล้ว ไปวัดการดูดกลืนแสงในช่วง UV-visible ด้วยเครื่อง UV-vis Spectrophotometer ได้ Spectra ดังรูปที่ 3.18



รูปที่ 3.18 แสดง Spectra การดูดกลืนแสงในช่วง UV-visible ของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่หลังจากการบ่มสารกับ สารละลาย BSA และ NaCl เป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยมีอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดง 2 เท่า จากเครื่อง UV-vis Spectrophotometer พบว่า Spectra เมื่อความเข้มข้นของ BSA ในสารละลายผสมมากขึ้น ค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงจะมากขึ้นและเริ่มคงที่เมื่อความเข้มข้นของ BSA เพิ่มมากขึ้น

เมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนมากที่สุดของสารละลายอนุภาค Control มาวาดกราฟร่วมกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน BSA ได้ความสัมพันธ์ดังรูปที่ 3.19

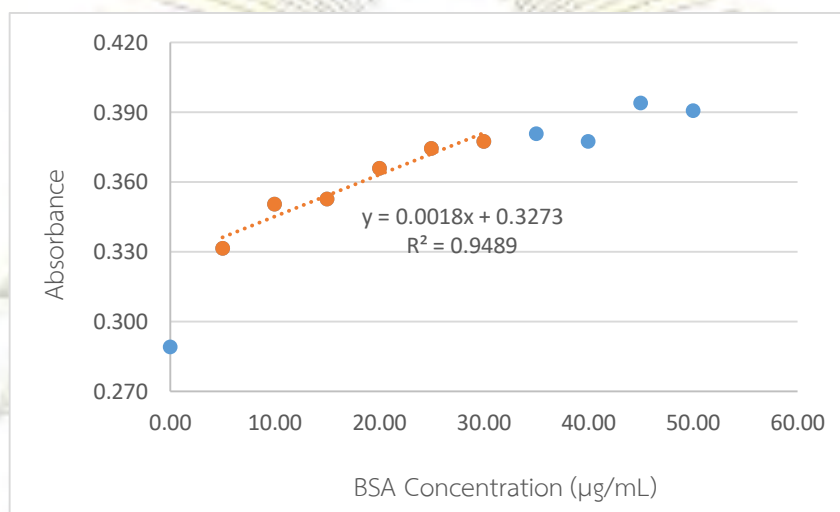


รูปที่ 3.19 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ BSA ในสารละลายผสม และ ค่าการดูดกลืนแสงที่ 599 nm โดยมีปริมาณอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดง 2 เท่า



จากกราฟพบว่าค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่ความยาวคลื่น 599 nm เพิ่มขึ้นในลักษณะที่เป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้นของ BSA 0-40  $\mu\text{g/mL}$  และเมื่อความเข้มข้นของ BSA มากกว่า 40  $\mu\text{g/mL}$  ค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่ความยาวคลื่น 599 nm ไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก

ผู้วิจัยยังได้ทำการวิเคราะห์ซ้ำอีกครั้งในช่วง 0-50  $\mu\text{g/mL}$  และเมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 599 nm มาวาดกราฟคู่กับความเข้มข้นของ BSA ดังรูปที่ 3.20



รูปที่ 3.20 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ BSA ในสารละลายผสม ในช่วง 0-50  $\mu\text{g/mL}$  และ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 599 nm โดยมีปริมาณอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดง 2 เท่า

พบว่าในช่วงความเข้มข้น BSA 5-30  $\mu\text{g/mL}$  ได้ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณในสารละลายผสมและค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 599 nm เป็นความสัมพันธ์แบบเส้นตรงที่มีค่า  $R^2 = 0.9489$  และมีสมการเป็น  $y = 0.0018x + 0.3273$  นอกจากนี้ข้อบ่งชี้ของการตรวจวัดโปรตีนเพิ่มขึ้นเป็น 30  $\mu\text{g/mL}$  ซึ่งมากกว่าค่าสูงสุดที่อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงสามารถตรวจวัดได้ในขั้นตอนที่ 2.4 เนื่องจากค่าการดูดกลืนแสงขึ้นอยู่กับปริมาณอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่ถูกรักษาความเสถียรด้วยโปรตีน เมื่ออนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงถูกรักษาความเสถียรด้วยโปรตีนโดยสมบูรณ์แล้ว การเพิ่มปริมาณโปรตีนเข้าสู่ระบบ ค่าการดูดกลืนแสงจึงไม่เพิ่มขึ้น ดังนั้นเมื่อมีจำนวนอนุภาคระดับนาโนเมตรในระบบมากขึ้นจะสามารถดูดซับปริมาณโปรตีนได้มากขึ้น และขยายช่วงการตรวจวัดโปรตีนให้กว้างขึ้นเช่นกัน ผู้วิจัยจึงสรุปได้ว่าเมื่อปริมาณอนุภาคนาโนทองแดงเพิ่มมากขึ้น ช่วงการตรวจวัดแบบเส้นตรงของการตรวจวัดโปรตีนจะกว้างขึ้นเช่นกัน

## บทที่ 4

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะจากการทดลอง

งานวิจัยชิ้นนี้ทำการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองแดงเพื่อตรวจวัดปริมาณโปรตีน โดยโปรตีนที่ตรวจวัดแบ่งออกเป็นทั้งหมด 2 ชนิดคือ โปรตีนมาตรฐาน BSA และสารละลายโปรตีนตัวอย่าง (นม) โดยทำการพิสูจน์เอกลักษณ์อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่สังเคราะห์ได้ด้วยเทคนิค X-ray Diffraction, Transmission Electron Microscope และ UV-vis Spectroscopy พบว่าได้อนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่มีรูปร่างกลมและมีขนาด 38 nm หลังจากนั้นนำอนุภาคนาโนทองแดงไปตรวจวัดปริมาณโปรตีน และศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ ปริมาณต่ำสุดของโปรตีน BSA และนมที่สามารถตรวจวัดได้ และช่วงที่เป็นเส้นตรงของการตรวจวัดโปรตีน พบว่าสามารถตรวจวัดโปรตีน BSA ได้ในช่วง 0-0.016 mg/mL และตรวจวัดปริมาณโปรตีนในนมในช่วง 0-0.016 mg/mL ซึ่งปริมาณโปรตีนในนมตัวอย่างที่นำมาใช้มีความเข้มข้นโปรตีนอยู่ที่ 40 mg/mL ดังนั้นต้องทำการเจือจางตัวอย่างนมก่อนทำการวิเคราะห์ โดยมีค่า limit of detection ของการตรวจโปรตีนเท่ากับ  $3 \times 10^{-5}$  mg/mL สำหรับสารละลาย BSA และ  $8 \times 10^{-5}$  mg/mL สำหรับสารละลายนม และปริมาณอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองแดงที่ใช้ในการวิเคราะห์ส่งผลโดยตรงต่อปริมาณโปรตีนที่ตรวจวัดได้

#### แนวทางการพัฒนางานวิจัย

- ศึกษาผลของขนาดอนุภาคนาโนทองแดงต่อการตรวจวัดปริมาณโปรตีน
- ศึกษาผลกระทบขององค์ประกอบชนิดอื่นที่อยู่ในนม เช่น น้ำตาล แป้ง และ ไขมัน ที่อาจส่งผลกระทบต่อ การตรวจวัดปริมาณโปรตีน
- ศึกษาการตรวจวัดโปรตีนในนมชนิดอื่น เช่น นมแพะ นมถั่วเหลือง ซึ่งมีชนิดของโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบแตกต่างจากนมวัว

#### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้อนุภาคนาโนทองแดงที่มีสมบัติการเปลี่ยนแปลงการดูดกลืนแสงตามปริมาณโปรตีนในอาหารและสามารถพัฒนาไปในการตรวจวัดด้วยตาเปล่าซึ่งจะทำให้ใช้งานได้ง่ายต่อไป

## เอกสารอ้างอิง

1. Pernqvist A. Dairy products and packaging catering to all segment. Tetra Pak. 2014. Available at: [http://www.i3l.ac.id/images/upload/Dairy%20products%20and%20packaging%20catering%20to%20all%20segments\\_Tetra%20Pak.pdf](http://www.i3l.ac.id/images/upload/Dairy%20products%20and%20packaging%20catering%20to%20all%20segments_Tetra%20Pak.pdf). Accessed April 22, 2017.
2. ชมรมคนสร้าง สถานการณ์นมโลกและการบริโภคนมเชิงคุณค่า. Dairy Development Program. 2016. Available at: <http://dairydevelopmentprogram.weebly.com/blog-36153634361936603617362636403586/16>. Accessed April 22, 2017.
3. Chen C.; Luo M.; Ye T.; Li N.; Ji X.; He Z. Sensitive colorimetric detection of protein by gold nanoparticles and rolling circle amplification *Analyst* **2015**, *140*, 4515-4520
4. Nietzold C.; Lisdat F. Fast protein detection using absorption properties of gold nanoparticles *Analyst* **2012**, *137*, 2821-2826
5. Shrivastava S.; Dash D. Label-free colorimetric estimation of protein using nanoparticles of silver *Nano-Micro Lett.* **2010**, *2*, 164-168
6. Salman M.; Iqbal M.; Ashry S. H.; Kanwal S. Robust one pot synthesis of colloidal silver nanoparticles by simple redox method and absorbance recovered sensing *Biosens. Bioelectro.* **2012**, *36*, 236-241
7. Wang H.; Zhang H.; Chen Y.; Liu Y. A fluorescent biosensor for protein detection based on poly(thymine)-templated copper nanoparticles and terminal protection of small molecule-linked DNA *Biosens. Bioelectro.* **2015**, *74*, 581-586
8. Nanoparticle. Science Daily. Available at: <https://www.sciencedaily.com/terms/nanoparticle.htm>. Accessed April 22, 2017.
9. วัสดุนาโน. สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน. Available at: <http://kanchanapisek.or.th/kp6/sub/book/book.php?book=32&chap=8&page=t32-8-infodetail04.html>. Accessed April 22, 2017



10. Chompuso A. Gold nanostructure: synthesis and application for cancer therapy *KKU Sci. J.* **2013**, *41*, 859-872
11. สถาบันนวัตกรรมและพัฒนาระบบการเรียนรู้ออนไลน์ มหาวิทยาลัยมหิดล. ความพิเศษของโลกนาโน. Mahidol. Available at: <http://www.il.mahidol.ac.th/e-media/nano/Page/Unit2-5.html>  
Accessed April 22, 2017
12. Katherine A.; Duyne W. P.; Duyne R. P. Localized surface plasmon resonance spectroscopy and sensing *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2007**, *58*, 267-297
13. Sarapuk. Biosensor คืออะไร. Biomed. 2010 Available at: <http://www.biomed.in.th/biosensor/> Accessed April 22, 2017
14. เทคโนโลยีชีวภาพปริทรรศน์. ไปโอเซ็นเซอร์คืออะไร. Vcharkarn. 2009 Available at: <http://www.vcharkarn.com/varticle/38381> Accessed April 22, 2017
15. ผศ. ดร.พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ ศาสตราจารย์ดกเกียรติคุณ ดร.นิธิยา รัตนูปนนท์. Salting out. Food Network Solution. Available at: <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1820/salting-out> Accessed April 22, 2017
16. University of Texas. Dipole-Dipole. Chemistry 301. Available at: <https://ch301.cm.utexas.edu/section2.php?target=imfs/forces/dipole-dipole.html> Accessed April 22, 2017
17. ณปภัช พิมพ์ดี. แรงดึงดูดระหว่างขั้ว. Scimath. 2013 Available at: [http://www.scimath.org/socialnetwork/groups/viewbulletin/1856แรงดึงดูดระหว่างขั้ว+\(dipole+%E2%80%93+dipole+force\)?groupid=292](http://www.scimath.org/socialnetwork/groups/viewbulletin/1856แรงดึงดูดระหว่างขั้ว+(dipole+%E2%80%93+dipole+force)?groupid=292)  
Accessed April 22, 2017
18. The University of New South Wales. Intermolecular Force. Available at: <https://www.chem.unsw.edu.au/coursenotes/CHEM1/nonunipass/hainesIMF/dipoledipole.html> Accessed April 22, 2017
19. Hard and Soft Acids and Bases. Chem Libretexts. 2016 Available at: [https://chem.libretexts.org/Core/Inorganic\\_Chemistry/Coordination\\_Chemistry/Complex\\_Ion\\_Equilibria/Hard\\_and\\_Soft\\_Acids\\_and\\_Bases](https://chem.libretexts.org/Core/Inorganic_Chemistry/Coordination_Chemistry/Complex_Ion_Equilibria/Hard_and_Soft_Acids_and_Bases)  
Accessed April 22, 2017
20. Sensor. Metabolomx. Available at: <http://metabolomx.com/project/sensor/>  
Accessed April 22, 2017

21. Umer A.; Naveed S.; Ramzan N.; Rafique M. S.; Imran M. A green method for the synthesis of copper nanoparticles using L-ascorbic acid *revista Materia* **2014**, *19*, 197-203
22. Deng D.; Jin Y.; Cheng Y.; Qi T.; Xiao F. Copper nanoparticles: Aqueous phase synthesis and conductive films fabrication at low sintering temperature *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2013**, *5*, 3839-3846
23. Dang T. M. D.; Le T. T. T.; Fribourg-Blanc E.; Dang M. C. Synthesis and optical properties of copper nanoparticles prepared by a chemical reduction method *Adv. Nat. Sci.: Nanosci. Nanotechnol.* **2011**, *2*, 1-6
24. สถาบันนวัตกรรมและพัฒนาระบบการเรียนรู้ มหาวิทยาลัยมหิดล. โครงสร้างนาโนในธรรมชาติ. Mahidol. Available at: <http://www.il.mahidol.ac.th/e-media/nano/Page/Unit2-2.html>  
Accessed April 22, 2017
25. Khanna P. K.; Gaikwad S.; Adhyapak P. V.; Singh N.; Marimuthu R. Synthesis and Characterization of Copper Nanoparticles *Materials Letters* **2007**, *61*, 4711-4714



### ประวัติผู้วิจัย

นายพศวีร์ พรพินิจสุวรรณ เกิดเมื่อวันที่ 23 เดือนสิงหาคม พ.ศ. 2538 ที่กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนสาธิตจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (ฝ่ายมัธยม) กรุงเทพมหานคร เมื่อปีการศึกษา 2555 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2556 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 442 ถนนเยาวราช แขวงสัมพันธวงศ์ เขตสัมพันธวงศ์ กรุงเทพมหานคร รหัสไปรษณีย์ 10100 อีเมล [babe.potsawee@gmail.com](mailto:babe.potsawee@gmail.com)

