4.2 ผลการศึกษาการประยุกต์เป็นตัวรับรู้

สารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยวิธีเคมีสีเขียว จะได้สีที่แตกต่างกัน นับว่าเป็นข้อดีของการสังเคราะห์ด้วยวิธีนี้ การประยุกต์ใช้กับตัวรับรู้สีของสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนจะเปลี่ยนแปลงไปตามชนิดและความเข้มข้นของตัวรับรู้ ชนิดและความเข้มข้นของตัวรับรู้ที่ใช้มีดังต่อไปนี้

4.2.1 ตัวรับรู้สารละลายแอมโมเนีย

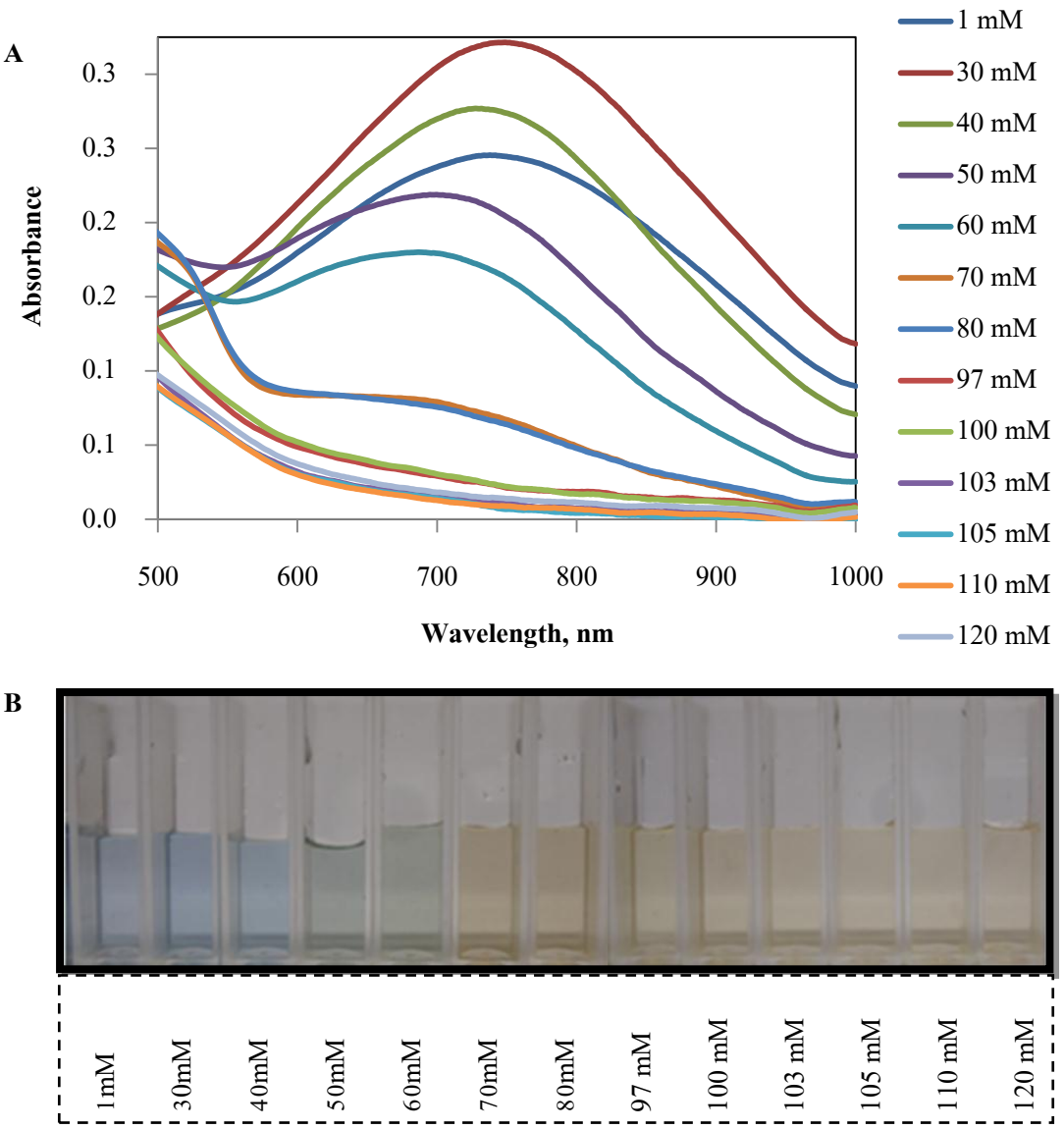
แอมโมเนียเป็นสารประกอบเคมี ที่มีความเป็นพิษ และกัดกร่อน รูปร่างโมเลกุลมีลักษณะเป็นไดโพล (dipole) และมีความเป็นขั้ว ดังนั้นแอมโมเนียจึงละลายในน้ำได้ดีมีฤทธิ์เป็นเบส ใน สารละลายน้ำ (aqueous solution) ในชีวิตประจำวันมักจะพบในปุ๋ยและสารประกอบพอลิเมอร์บางชนิด ด้วยเหตุนี้จึงนำสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนมาประยุกต์ใช้ในการหาปริมาณสารละลายแอมโมเนีย

สารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนที่สังเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมีโดยการใช้สารรักษาเสถียรภาพ ต่างๆ ชนิดและความเข้มข้นมีส่วนสำคัญในการประยุกต์ใช้ การใช้เป็นตัวรับรู้ การหาจุดที่สารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนทำปฏิกิริยาพอดีกับตัวรับรู้เป็นสิ่งที่สำคัญ เพราะเป็นการหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถรับรู้ได้

ด้วยเหตุผลที่กล่าวมาข้างต้น ในงานวิจัยนี้จะเลือกใช้อนุภาคเงินระดับนาโนที่มีสารรักษาเสถียรภาพ PAA 9 mM, สารรักษาเสถียรภาพ CoPSS 7 mM และสารรักษาเสถียรภาพ PMA 7 mM ตามลำดับ และทำการศึกษาหาความเข้มข้นที่ทำปฏิกิริยาพอดีกับสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโน โดยมีลำดับขั้นตอนการศึกษา ดังนี้

.

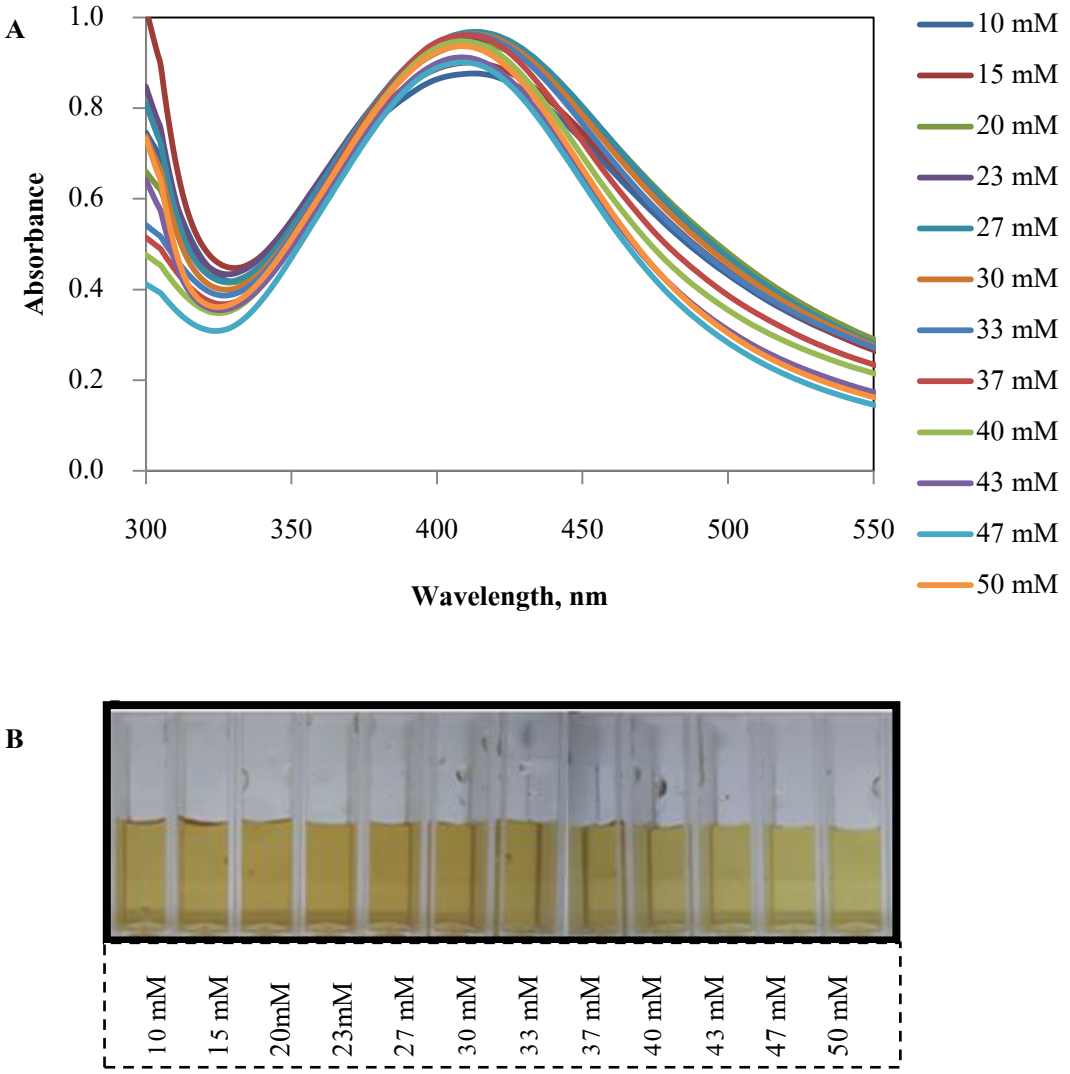
4.2.1.1 สารรักษาเสถียรภาพ PAA 9 mM



รูปที่ 4.39 สารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนที่สังเคราะห์ด้วยวิธีเคมีสีเขียวโดยการใช้สารรักษาเสถียรภาพ PAA ความเข้มข้น 9 mM นำไปประยุกต์ใช้เป็นตัวรับรู้สารละลายแอมโมเนียความเข้มข้น 1-120 mM โดยค่าการดูดกลืนแสง(A) และสีของสารละลาย (B)

ผลการศึกษารูปที่ 4.39 พบว่า สารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนที่สังเคราะห์ด้วยวิธีเคมีสีเขียวโดยการใช้สารรักษาเสถียรภาพ PAA ความเข้มข้น 9 mM สีของสารละลายฯเริ่มมีการเปลี่ยนแปลง เมื่อสารละลายแอมโมเนียมีความเข้มข้น 50 mM และสีของสารละลายฯเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงได้ชัดเจนที่ความเข้มข้น 70 mM แต่สีของสารละลายฯที่เปลี่ยนแปลงยังไม่ชัดเจน และยังอยู่ในเฉดสีเดียวกัน จึงต้องทำการศึกษาสารรักษาเสถียรภาพ ชนิดต่อไป

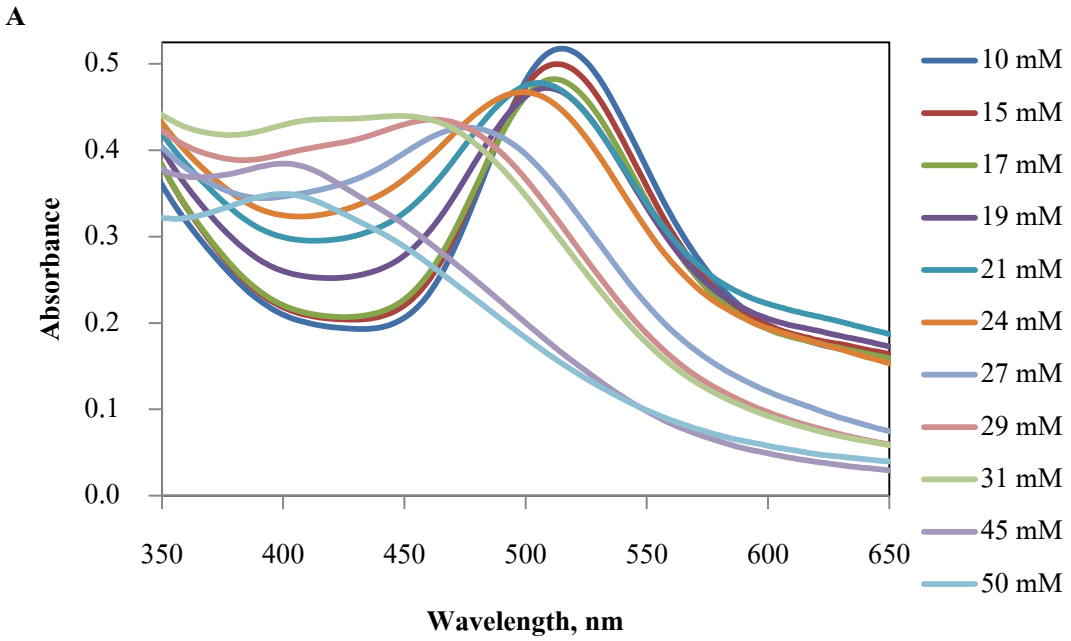
4.2.1.2 สารรักษาเสถียรภาพ CoPSS 7 mM

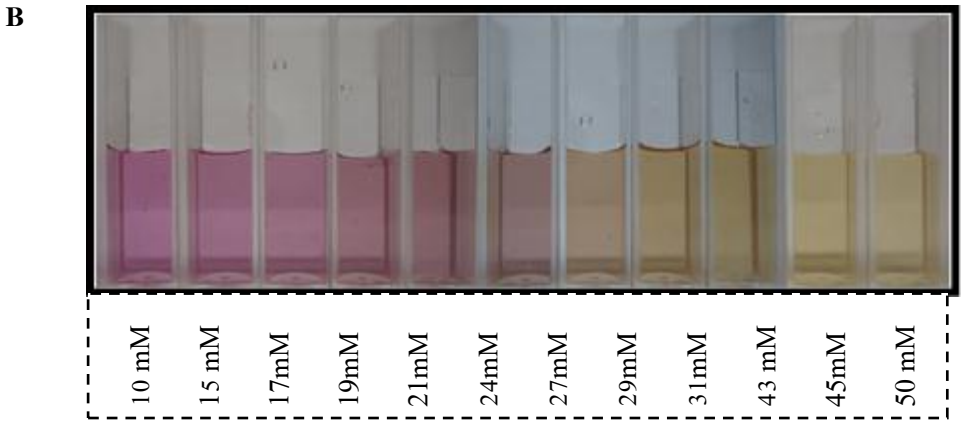


รูปที่ 4.40 สารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนที่สังเคราะห์ด้วยวิธีเคมีสีเขียวโดยการใช้สารรักษาเสถียรภาพ CoPSS ความเข้มข้น 7 mM นำไปประยุกต์ใช้เป็นตัวรับรู้สารละลายแอมโมเนียความเข้มข้น 1-50 mM โดยค่าการดูดกลืนแสง (A) และสีของสารละลาย (B)

ผลการศึกษารูปที่ 4.40 พบว่า สารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนที่สังเคราะห์ด้วยวิธีเคมีสีเขียวโดยการใช้สารรักษาเสถียรภาพ CoPSS ความเข้มข้น 7 mM มีการเปลี่ยนแปลงสีต่ำจนไม่สามารถสังเกตถึงการเปลี่ยนแปลงได้ จึงต้องทำการศึกษาสารรักษาเสถียรภาพ ชนิดต่อไป

4.2.1.3 สารรักษาเสถียรภาพ PMA 7 mM

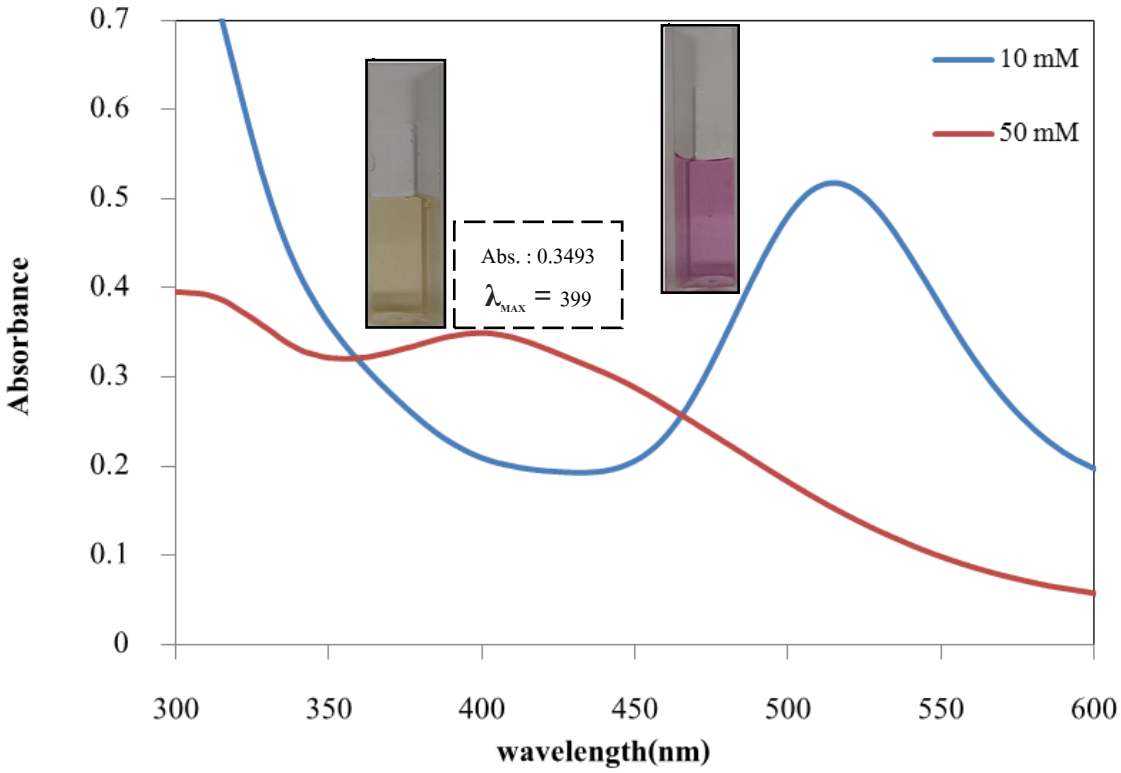




รูปที่ 4.41 : สารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนที่สังเคราะห์ด้วยวิธีเคมีสีเขียว โดยการใช้สารรักษาเสถียรภาพ PMA ความเข้มข้น 7 mM นำไปประยุกต์ใช้เป็นตัวรับรู้สารละลายแอมโมเนียความเข้มข้น 10-50 mM โดยค่าการดูดกลืนแสง (A) และสีของสารละลาย (B)

ผลการศึกษารูปที่ 4.41 พบว่า สารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนที่สังเคราะห์ด้วยวิธีเคมีสีเขียว โดยการใช้สารรักษาเสถียรภาพ PMA ความเข้มข้น 7 mM มีการเปลี่ยนแปลงสีอย่างชัดเจน โดยเปลี่ยนแปลงจากสีชมพูกลายเป็นสีเหลือง แสดงให้เห็นถึงความเหมาะสมของการใช้สารรักษาเสถียรภาพ ชนิดและความเข้มข้นดังกล่าว

เพื่อความชัดเจนของการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายที่เกิดขึ้น สังเกตได้จากรูปที่ 4.42

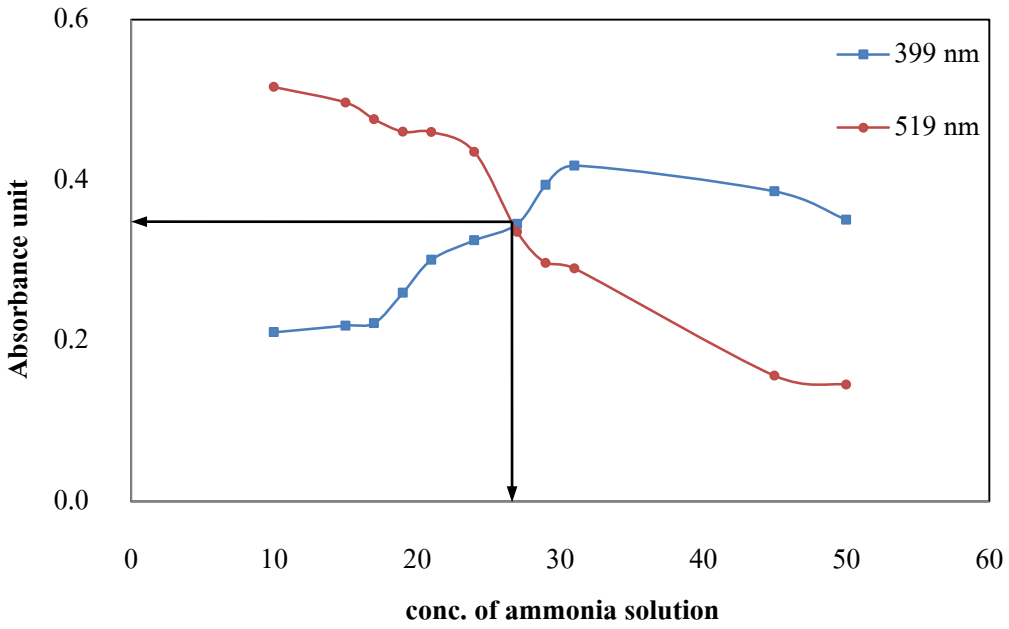


รูปที่ 4.42 สารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนที่สังเคราะห์ด้วยวิธีเคมีสีเขียว โดยการใช้สารรักษาเสถียรภาพ PMA ความเข้มข้น 7 mM นำไปประยุกต์ใช้ให้เป็นตัวรับรู้สารละลายแอมโมเนียความเข้มข้น 10 และ 50 mM โดยค่าการดูดกลืนแสงและสีของสารละลาย

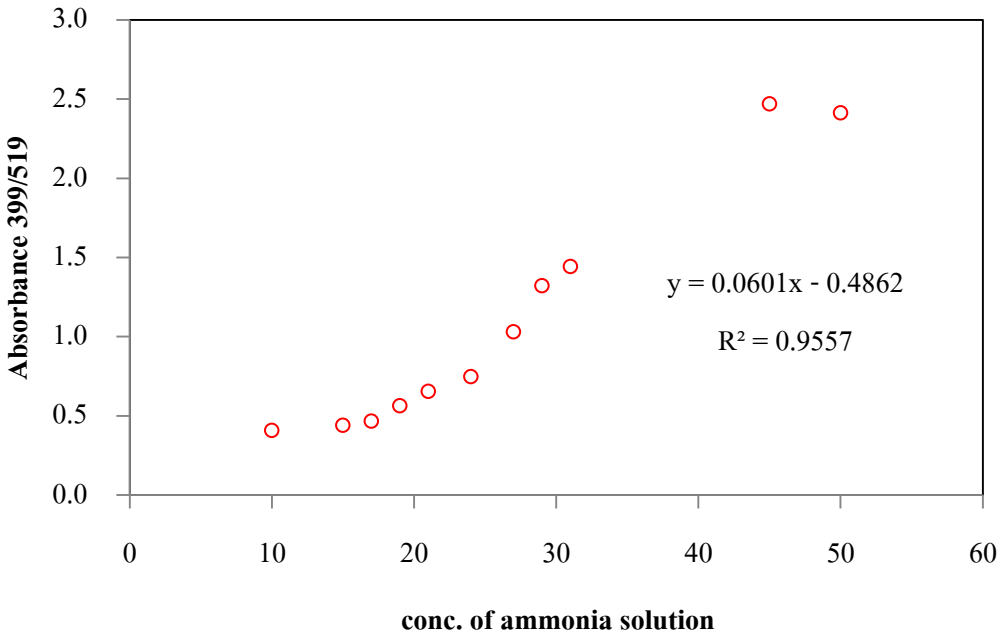
จากรูปที่ 4.42 แสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย โดยสีที่เกิดการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นเพราะแอมโมเนียสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับซิลเวอร์ไอออนที่เหลืออยู่ในสารละลาย โดยเกิดเป็นสารประกอบโคออร์ดิเนตโควาเลนต์ในรูป $Ag(NH_3)_2^+$ ด้วยโครงสร้างของแอมโมเนียที่มีความชอบน้ำและสามารถเพิ่มประจุให้กับอนุภาคเงินระดับนาโนได้ ส่งผลให้โมเลกุลของน้ำกลับมาล้อมรอบอนุภาคเงินระดับนาโน ระยะห่างของน้ำน้อยลง การกระเจิงแสงก็น้อยลง แสงที่สะท้อนออกมาจากระยะห่างก็น้อยลงตามไปด้วย สีที่ปรากฏจึงมีการเปลี่ยนแปลง

สำหรับการออกแบบเซนเซอร์ชนิดใช้แสง (Optical senser) การติดตามการเปลี่ยนแปลงการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่จำเพาะเจาะจงเป็นสิ่งที่มีความสำคัญอย่างยิ่งมากกว่าการติดตามการเปลี่ยนแปลงสเปกตรัมของสารที่แสดงการเป็นตัวรับรู้ ในกรณีนี้จะอธิบายการสร้างตัวรับรู้ของอนุภาคเงินระดับนาโนที่ใช้ PMA เป็นสารรักษาเสถียรภาพ (จากรูปที่ 4.42) โดยพบว่าอนุภาคเงินระดับนาโนดังกล่าว สามารถที่จะเปลี่ยนสี เมื่อเกิดปฏิกิริยากับสารละลายแอมโมเนีย โดยสีที่เกิดการเปลี่ยนแปลงจะเปลี่ยนจากสีชมพู [Ag^{+}/COO^{-}] เป็นสีเหลือง [$Ag(NH_3)^{+}_2$] โดยจะพบว่าสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนดังกล่าวที่เกิดปฏิกิริยากับสารละลายแอมโมเนียจะแสดงพีคของการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 399 และ 519 นาโนเมตร โดยที่ความยาวคลื่น 399 นาโนเมตร จะเป็นพีคการดูดกลืนแสงของ $Ag(NH_3)^{+}_2$ และที่ความยาวคลื่น 519 นาโนเมตร เป็นพีคการดูดกลืนแสงของ Ag^{+}/COO^{-} ซึ่งสเปกตรัมที่ทุกๆ สภาวะจะมีจุดตัดร่วมกันที่เรียกว่า Isosbestic point ซึ่งเป็นจุดที่อนุภาคเงินระดับนาโนที่มี PMA เป็นสารรักษาเสถียรภาพจะไม่มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง ดังนั้นจึงสามารถเลือกใช้ความเข้มข้น ณ จุดนี้ สำหรับใช้เป็นการเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงสีที่เปลี่ยนแปลงไปของสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนที่มี PMA เป็นสารรักษาเสถียรสภาพที่เกิดปฏิกิริยากับสารละลายแอมโมเนียได้ ในที่นี้พบว่าความเข้มข้นต่ำสุดของแอมโมเนีย ที่ทำให้สารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนเกิดการเปลี่ยนแปลงสี คือ 26.45 มิลลิโมลาร์

มากไปกว่านั้น สารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนที่มี PMA เป็นสารรักษาเสถียรภาพเมื่อถูกใช้เป็นตัวรับรู้แอมโมเนีย สามารถที่จะให้ความสัมพันธ์เป็นเชิงแนวเส้นตรง (linear relationship) โดยมีค่า $R^2 = 0.955$ แสดงได้ดังรูปที่ 4.43



ข.



รูปที่ 4.43 : แสดงอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 399 และ 519 นาโนเมตร (nm) ของสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนที่มีปริมาณของสารละลายแอมโมเนีย ความเข้มข้น 10-50 mM

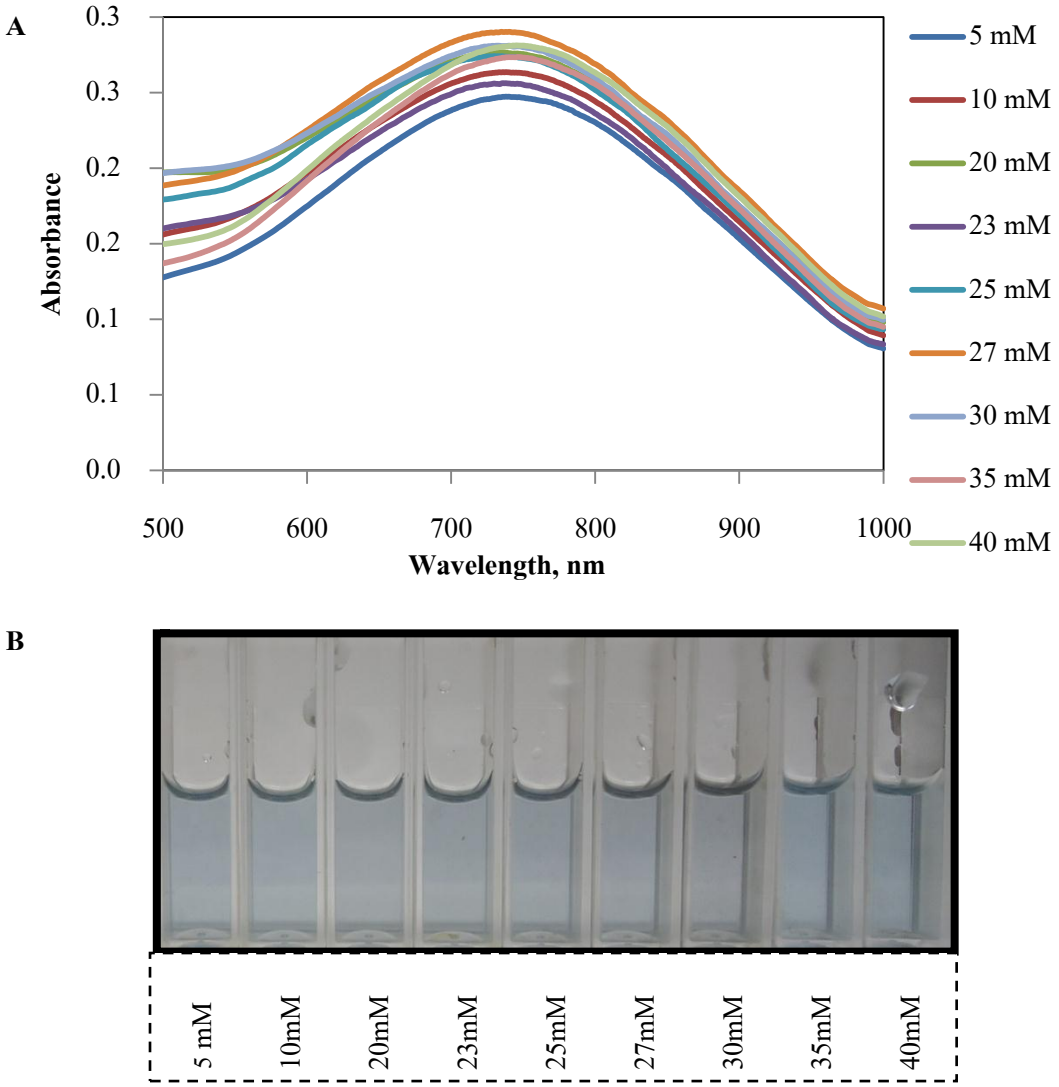
4.2.2 ตัวรับรู้สารละลายกรดออกซาลิก

กรดออกซาลิก เป็นสารมีฤทธิ์ในการยับยั้งการดูดซึมของแคลเซียมและแร่ธาตุสำคัญหลายชนิดในกระแสเลือด มีผลเสียต่อร่างกายคือ หากรับประทานเป็นประจำทุกวันในปริมาณมาก ออกซาเลตจะเข้าไปตกผลึกสะสมในไตและกระเพาะปัสสาวะทำให้เป็นนิ่วด้วยเหตุนี้จึงนำสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนมาประยุกต์ใช้ในการหาปริมาณสารละลายกรดออกซาลิก

สารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนที่สังเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมีโดยการใช้สารรักษาเสถียรภาพต่างๆ ชนิดและความเข้มข้นมีส่วนสำคัญในการประยุกต์ใช้ การใช้เป็นตัวรับรู้ การหาจุดที่สารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนทำปฏิกิริยาพอดีกับตัวรับรู้เป็นสิ่งที่สำคัญ เพราะเป็นการหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถรับรู้ได้

ด้วยเหตุผลที่กล่าวมาข้างต้น ในงานวิจัยนี้จะเลือกใช้อนุภาคเงินที่มีสารรักษาเสถียรภาพ PAA 9 mM, สารรักษาเสถียรภาพ CoPSS 7 mM และสารรักษาเสถียรภาพ PMA 7 mM ตามลำดับ และทำการศึกษาหาความเข้มข้นที่ทำปฏิกิริยาพอดีกับสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโน โดยมีลำดับขั้นตอนการศึกษา ดังนี้

4.2.1.1 สารรักษาเสถียรภาพ PAA 9 mM

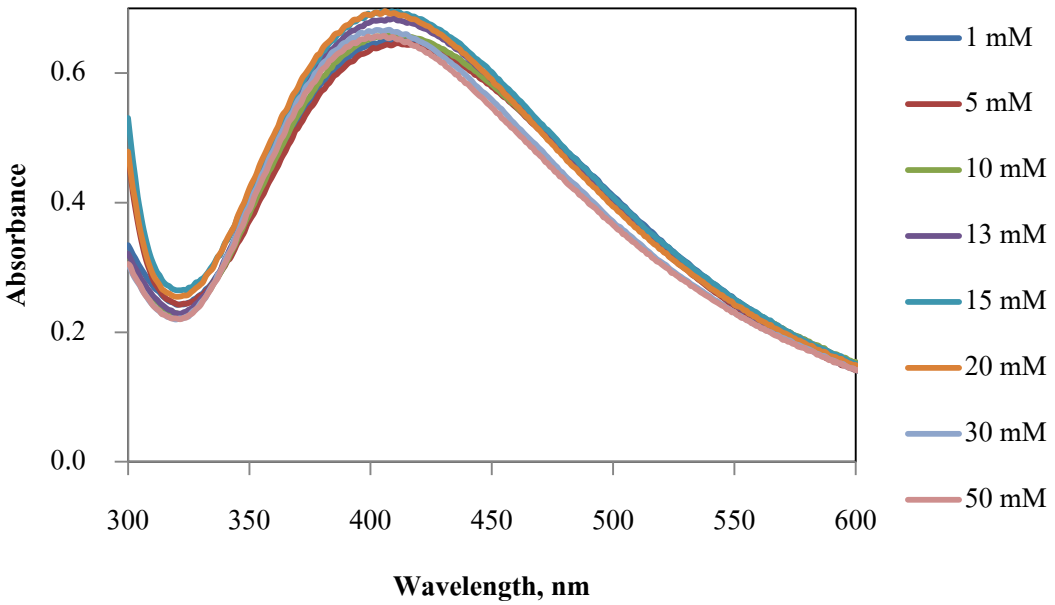


รูปที่ 4.44 สารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนที่สังเคราะห์ด้วยวิธีเคมีสีเขียว โดยการใช้สารเพิ่มความคงตัว PAA ความเข้มข้น 9 mM นำไปประยุกต์ใช้เป็นตัวรับรู้สารละลายกรดออกซาลิกความเข้มข้น 5-40 mM โดยค่าการดูดกลืนแสง(A) และสีของสารละลาย(B)

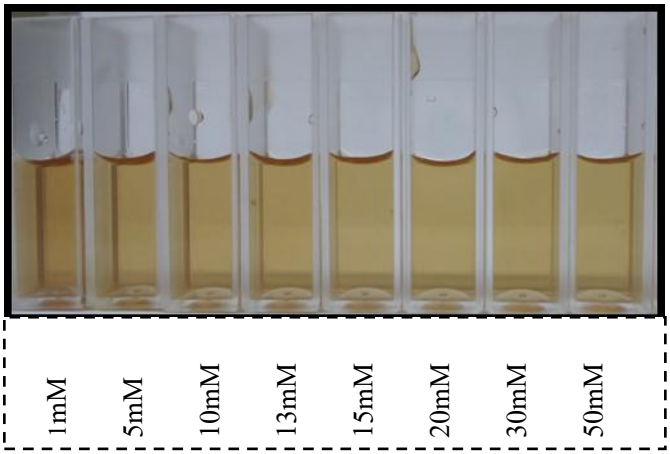
ผลการศึกษารูปที่ 4.44 พบว่า สารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนที่สังเคราะห์ด้วยวิธีเคมีสีเขียวโดยการใช้สารรักษาเสถียรภาพ PAA ความเข้มข้น 9 mM สีของสารละลายเปลี่ยนแปลงน้อยมาก ไม่สามารถวิเคราะห์ผลการศึกษาได้ สารรักษาเสถียรภาพ PAA ความเข้มข้น 9 mM ไม่เหมาะสมที่จะนำมาประยุกต์ใช้เป็นตัวรับรู้กรดออกซาลิกจึงต้องมีการศึกษาสารรักษาเสถียรภาพชนิดอื่นต่อไป

4.2.1.2 สารรักษาเสถียรภาพ CoPSS 7 mM

A



B

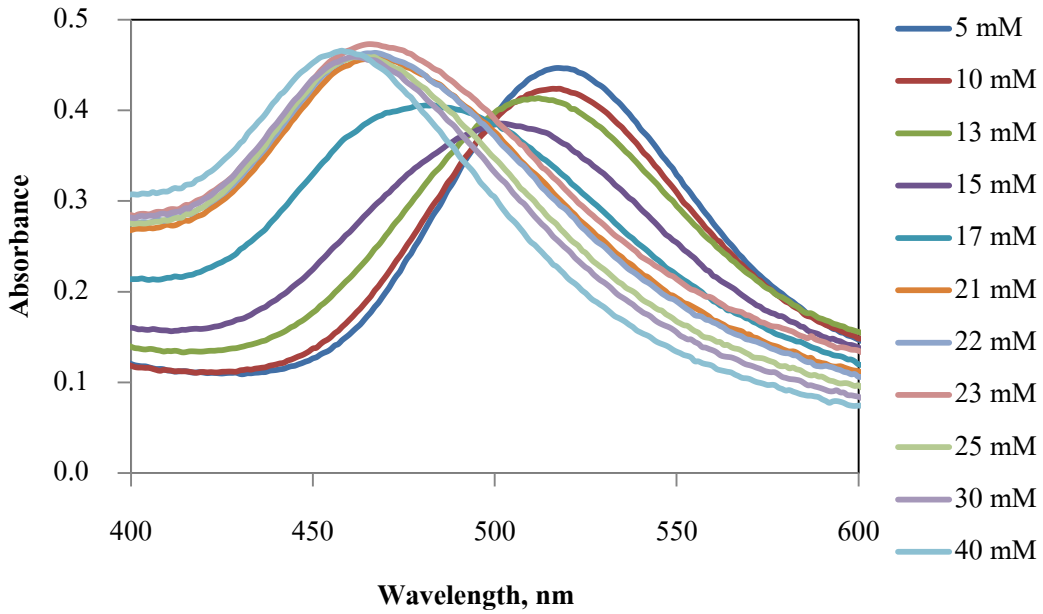


รูปที่ 4.45 สารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนที่สังเคราะห์ด้วยวิธีเคมีสีเขียวโดยการใช้สารรักษาเสถียรภาพ CoPSS ความเข้มข้น 7 mM นำไปประยุกต์ใช้ให้เป็นตัวรับรู้สารละลายแอมโมเนียความเข้มข้น 1–50 mM โดยค่าการดูดกลืนแสง(A) และสีของสารละลาย(B)

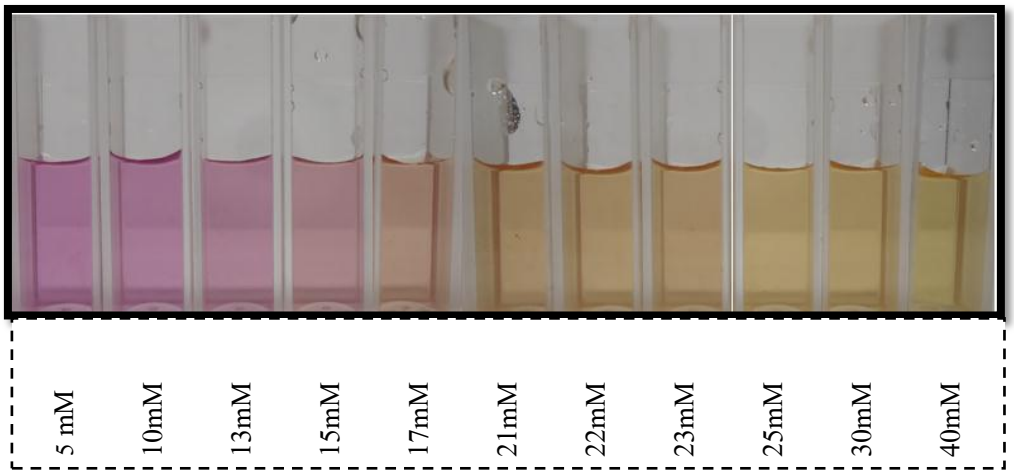
ผลการศึกษารูปที่ 4.45 พบว่า สารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนที่สังเคราะห์ด้วยวิธีเคมีสีเขียวโดยการใช้สารรักษาเสถียรภาพ CoPSS ความเข้มข้น 7 mM มีการเปลี่ยนแปลงสีต่ำจนไม่สามารถสังเกตได้ จึงต้องทำการศึกษาสารรักษาเสถียรภาพชนิดต่อไป

4.2.1.3 สารรักษาเสถียรภาพ PMA 7 mM

A



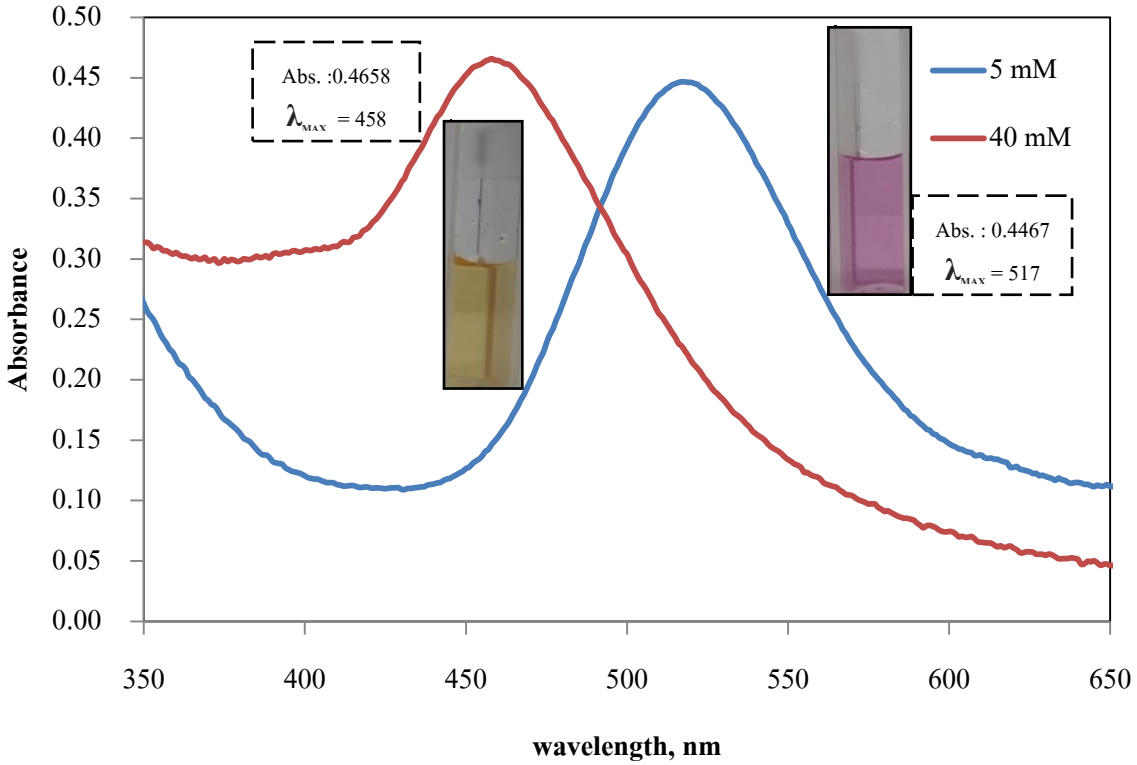
B



รูปที่ 4.46 : สารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนที่สังเคราะห์ด้วยวิธีเคมีสีเขียว โดยการใช้สารรักษาเสถียรภาพ PMA ความเข้มข้น 7 mM นำไปประยุกต์ใช้ให้เป็นตัวรับรู้สารละลายแอมโมเนียความเข้มข้น 5 –40 mM โดยค่าการดูดกลืนแสง(A)และ สีของสารละลาย(B)

ผลการศึกษารูปที่ 4.46 พบว่า สารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนที่สังเคราะห์ด้วยวิธีเคมีสีเขียวโดยการใช้สารรักษาเสถียรภาพ PMAความเข้มข้น 7 mM มีการเปลี่ยนแปลงสีอย่างชัดเจนโดยเปลี่ยนแปลงจากสีชมพูกลายเป็นสีเหลือง แสดงให้เห็นถึงความเหมาะสมในการใช้สารรักษาเสถียรภาพชนิดและความเข้มข้นดังกล่าว

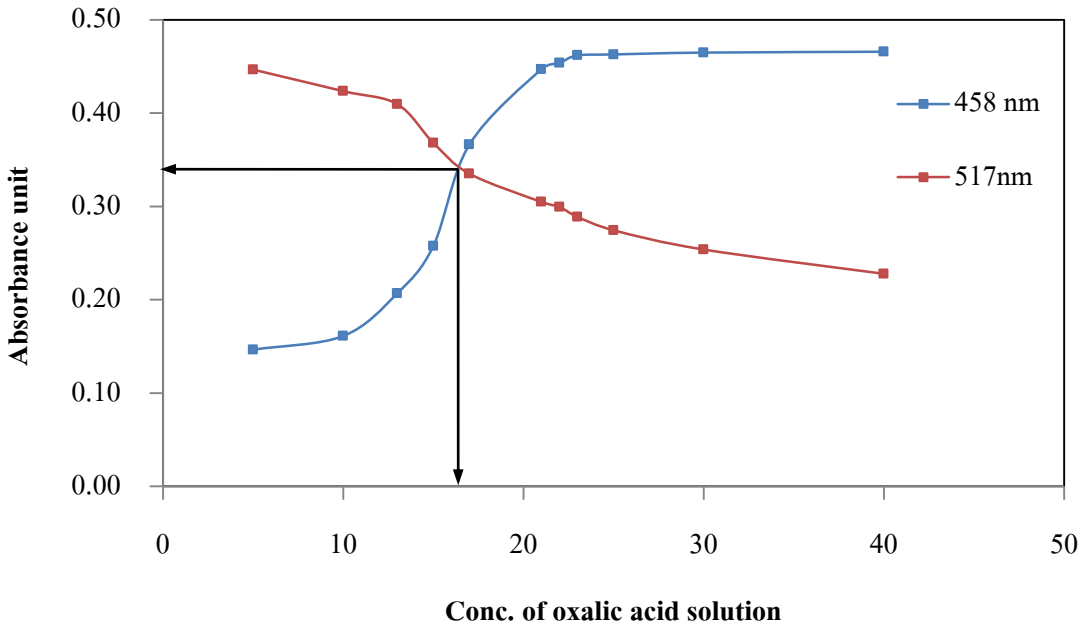
เพื่อความชัดเจนของการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายที่เกิดขึ้น สังเกตได้จากรูปที่ 4.47

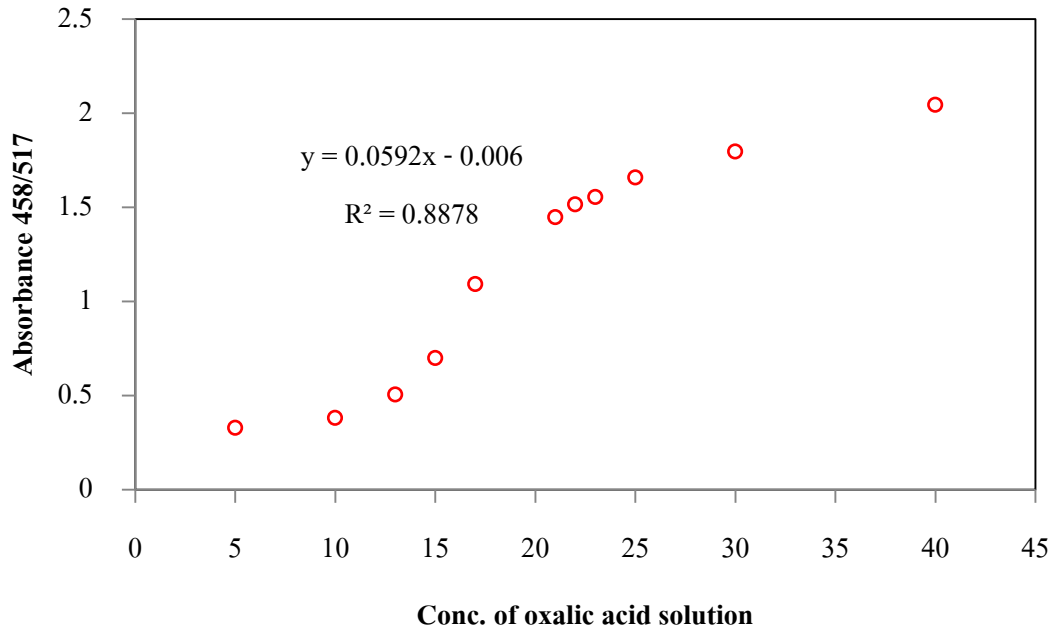


รูปที่ 4.47 สารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนที่สังเคราะห์ด้วยวิธีเคมีสีเขียว โดยการใช้สารรักษาเสถียรภาพ PMA ความเข้มข้น 7 mM นำไปประยุกต์ใช้ให้เป็นตัวรับรู้สารละลายแอมโมเนียความเข้มข้น 5 และ 40 mM โดยค่าการดูดกลืนแสงและสีของสารละลาย

จากรูปที่ 4.47 แสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย โดยสีที่เกิดการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นเพราะกรดออกซาลิกสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับซิลเวอร์ไอออนที่เหลืออยู่ในสารละลาย โดยเกิดเป็นสารประกอบโคออร์ดิเนตโควาเลนต์ในรูป Ag^{+}/COO^{-}_{2} ด้วยโครงสร้างของกรดออกซาลิกที่มีความชอบน้ำและสามารถเพิ่มประจุให้กับอนุภาคเงินระดับนาโนได้ ส่งผลให้โมเลกุลของน้ำกลับมาล้อมรอบอนุภาคเงินระดับนาโน ระยะห่างของน้ำน้อยลง การกระเจิงแสงก็น้อยลง แสงที่สะท้อนออกมาจากระยะห่างก็น้อยลงตามไปด้วย สีที่ปรากฏจึงมีการเปลี่ยนแปลง

Isosbesticpoint คือจุดที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของสองสปีชีส์ ในการศึกษาพบว่า Isosbestic point แสดงได้ดังรูปที่ 4.48





รูปที่ 4.48 แสดงอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 458 และ 517 นาโนเมตร ของสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนที่มีปริมาณของสารละลายกรดออกซาลิก ความเข้มข้น 5-40 mM

จากรูปที่ 4.48 แสดงสองสปีชีส์ของอนุภาคเงินระดับนาโนที่ได้จากการสังเคราะห์กับซิลเวอร์ไอออนที่เหลืออยู่จากปฏิกิริยารีดักชัน และพบว่าความเข้มข้นต่ำสุดของกรดออกซาลิก ที่ทำให้สารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนเกิดการเปลี่ยนแปลงสี คือ 16.50 มิลลิโมลาร์ และมีความสัมพันธ์เป็นเชิงแนวเส้นตรง (linear relationship) โดยมีค่า $R^2 = 0.887$

4.3 ผลการศึกษาการต้านเชื้อจุลินทรีย์

<u>กลไกการต้านเชื้อแบคทีเรียของอนุภาคเงินระดับนาโน</u>

การเกิดอันตรกิริยาของอนุภาคเงินระดับนาโนกับเชื้อแบคทีเรีย เกิดจากอนุภาคเงินระดับนาโนจะกระจายตัวหรือแทรกเข้าไปภายในเซลล์ของแบคทีเรีย และทำให้เกิดการรวมตัวของดีเอ็นเอภายในเซลล์ ขนาดของอนุภาคเงินระดับนาโนที่สามารถฆ่าเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพอยู่ในช่วง 1 – 10 นาโนเมตร เนื่องจากอนุภาคขนาดเล็กจะแสดงอิทธิพลของ electronic effect ได้ดียิ่งขึ้นทำให้ความว่องไวของพื้นผิวของอนุภาคขนาดเงินระดับนาโนในการเกิดปฏิกิริยาสูงขึ้น รวมถึงความแข็งแรงในการจับของอนุภาคนาโนของเงินกับแบคทีเรียขึ้นกับพื้นที่ผิวที่เกิดอันตรกิริยา ดังนั้นพื้นผิวที่เพิ่มขึ้นเมื่ออนุภาคมีขนาดเล็กลงทำให้ประสิทธิภาพของอนุภาคเงินระดับนาโนเพิ่มขึ้น

สามารถสรุปได้ว่ามี 3 กลไกหลักที่ทำให้อนุภาคนาโนของเงินสามารถต่อต้านแบคทีเรียได้ดี ได้แก่

1. อนุภาคนาโนของเงินในช่วง 1 – 10 nm จับกับผิวหน้าของเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียและรบกวนการทำงานระดับเซลล์ของแบคทีเรีย เช่น การขนส่งสารเข้าออกจากเซลล์ ทำลายระบบหายใจ ระบบขนย้ายอิเล็กตรอนในกระบวนการเมทาโบลิซึม และระบบขนย้ายซับสเตรทในเยื่อหุ้มเซลล์

2. อนุภาคนาโนของเงินสามารถแทรกเข้าไปภายในเซลล์แบคทีเรียและรบกวนการทำงานระดับโมเลกุลโดยจับกับสารที่มีกำมะถันและฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบ เช่น ดีเอ็นเอ มีผลทำให้แบคทีเรียไม่สามารถแบ่งเซลล์ได้และทำให้เซลล์ตายในที่สุด

3. อนุภาคนาโนของเงินเกิดการสลายตัวและปลดปล่อย Silver Ion เนื่องจากอนุภาคนาโนของเงินมีขนาดเล็กและมีเป็นจำนวนมาก ทำให้สามารถปลดปล่อย Silver Ion ออกมาด้วยความเข้มข้นสูง สามารถฆ่าแบคทีเรียได้อย่างรวดเร็ว

จุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก ที่ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า จึงจำเป็นต้องใช้กล้องจุลทรรศน์ ได้แก่ แบคทีเรีย อาร์เคีย รา และ ยีสต์ เป็นต้น เราสามารถพบจุลินทรีย์ได้ทุกสภาวะแวดล้อม แม้แต่ในสภาวะแวดล้อมที่สิ่งมีชีวิตอื่นอยู่ไม่ได้ แต่จุลินทรีย์บางชนิดสามารถปรับตัวอาศัยอยู่ได้ เช่น ในน้ำพุร้อนบริเวณภูเขาไฟใต้ทะเลลึก หรือภูเขาไฟธรรมดา ใต้มหาสมุทรที่มีความกดดันของน้ำสูงๆ ในน้ำแข็งที่มีอุณหภูมิเย็นจัด บริเวณที่มีสภาพความเป็นกรดด่างสูง หรือแม้กระทั่งในบริเวณที่ไม่มีออกซิเจนด้วยเหตุนี้ จึงนำสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนมาประยุกต์ใช้ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์

ในงานวิจัยนี้ได้นำสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนที่สังเคราะห์ด้วยวิธีเคมีสีเขียวโดยการใช้สารรักษาเสถียรภาพ PAA ความเข้มข้น 9 mM, สารรักษาเสถียรภาพ CoPSS 7 mM และสารรักษาเสถียรภาพ PMA 7 mM ไปทำการศึกษาเชื้อจุลินทรีย์สามชนิด คือ Staphylococcus aureus ATCC 2592 (S.aureus), Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 (P.aeruginosa) และ Candida albicans ATCC 10231 (C.albicans) และได้ทำการศึกษาผ่านสองตัวกลางคือ

4.3.1 ศึกษาผ่านสารละลาย

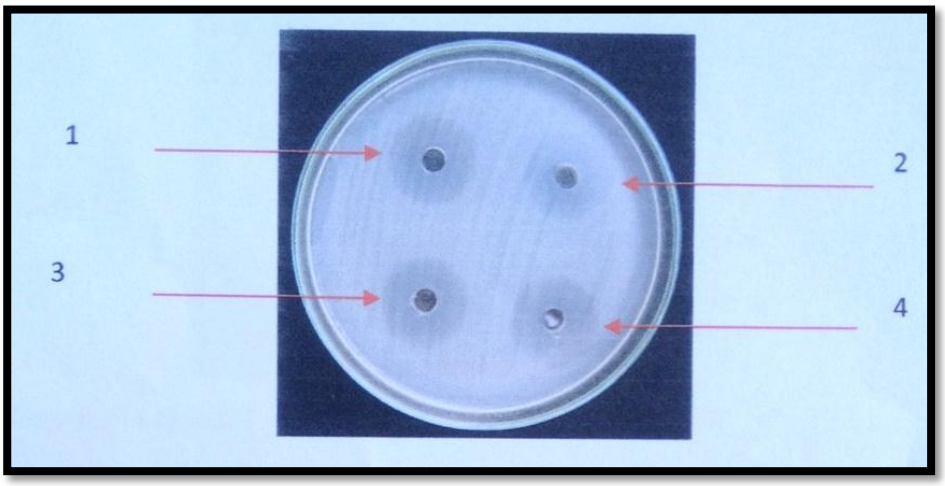
ทำได้โดยการใช้วิธี Agar dis diffusion เพื่อวัดพื้นที่การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโน (Inhitbition Zone) สารละลายที่เราใช้ทดสอบ มีดังนี้ Ag-PMA, Ag-PAA, Ag-COPSS, $AgNO_3$, PMA in buffer, PAA in buffer และ COPSS in buffer ส่วนเชื้อจุลินทรีย์ที่เราเลือกศึกษา ได้แก่ Staphylococcus aureus ATCC 25923 (S. aureus),Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 (P. aeruginos) และ Candida albicans ATCC 10231 (C. albicans) วิธี Agar dis diffusion

Agar dis diffusion มีขั้นตอนการทำคร่าวๆดังต่อไปนี้ นำเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดที่เพาะเลี้ยงใน Muller Hinton Agar (HMA) แบ่งลงใน Normal Saline หรืออาหาร MHB จากนั้นปรับให้มีความขุ่นเท่ากับ McFarland NO. 0.5 จะมีเชื้อปริมาณ $1x10^8$ CFU/ml เกลี่ยเชื้อลงบนอาหาร MHA โดยใช้ไม้พันสำลีจุ่มลงในสารละลายเชื้อ แล้วนำไปทาที่ผิวหน้าอาหาร 3 ครั้ง รอจนแห้งนำ Paper disc ที่มีสารที่ต้องการทดสอบ วางบนผิวหน้าอาหาร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส อ่านผลโดยการวัดขนาดของพื้นที่การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (Inhitbition Zone) ที่เกิดจากสารตัวอย่าง

เป็นมิลลิเมตร โดยวัดคร่อม Paper disc 2 ครั้ง ทั้งแนวตั้งและแนวนอน และหาค่าเฉลี่ย ได้ผลการศึกษาดังตารางที่ 4.7 และได้รูปผลการศึกษาดังรูปที่ 4.50-4.52

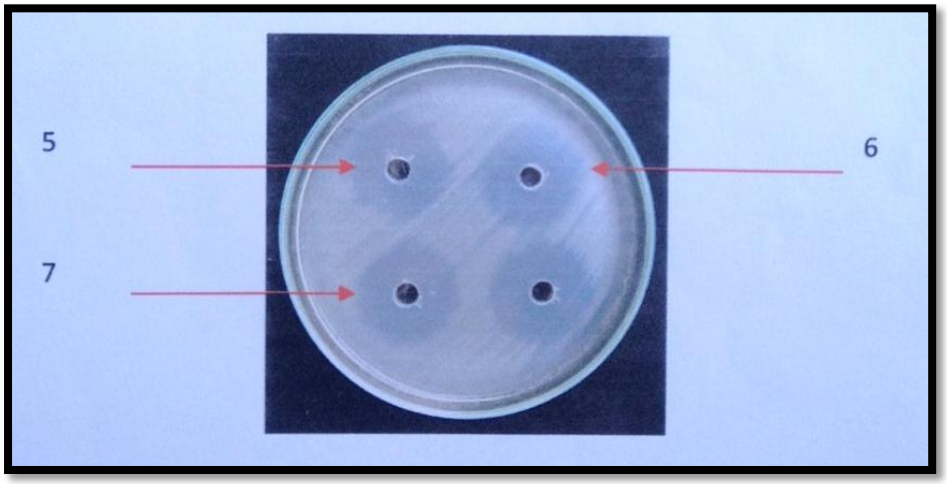
ลำดับ	สารละลาย	Zone Diameter (millimeter)		
		S.aureus	P.aeruginosa	C.albicans
1	AgNPs stabilize PMA conc. 7 mM in buffer	11	0	8
2	AgNPs stabilize PAA conc. 9 mM in buffer	11	0	8
3	AgNPs stabilize COPSS conc. 7 mM in buffer	11.5	0	8
4	$AgNO_3$ in solution	11	7	9
5	Stabilize PMA conc. 7 mM in buffer	10.5	0	0
6	Stabilize PAA conc. 9 mM in buffer	11	0	0
7	Stabilize COPSS conc. 7 mM in buffer	11	0	0

ตารางที่ 4.7 แสดงผลการศึกษาการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารละลายต่างๆที่ใช้ในงานวิจัย



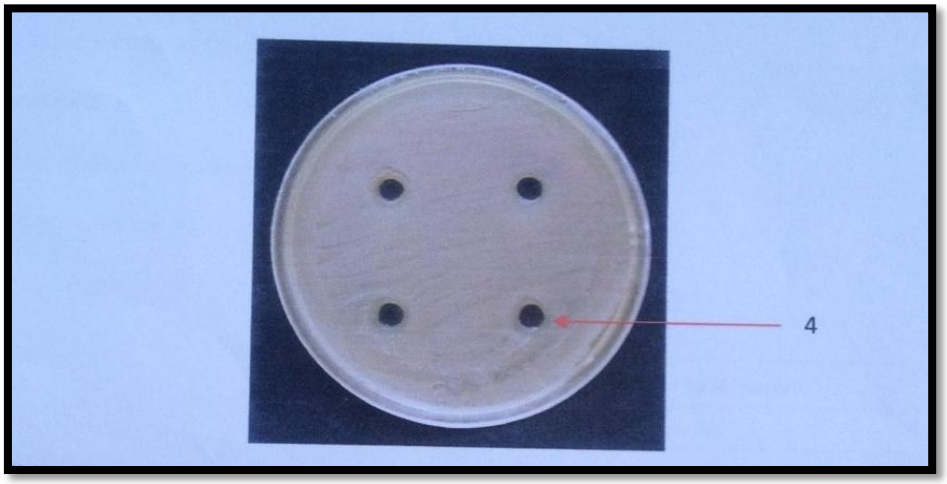
.

.



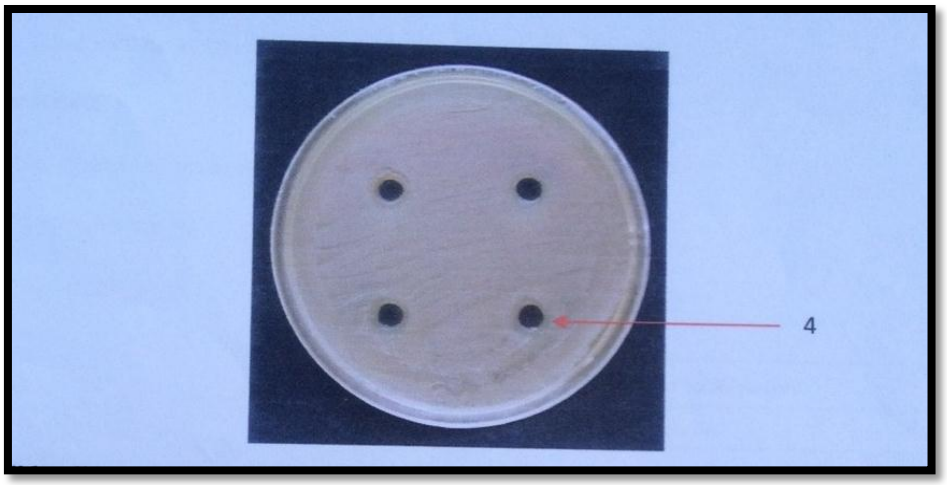
รูปที่ 4.49 แสดงภาพการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ชนิด

Staphyloccusaureus ATCC 2592 (S.aureus)



รูปที่ 4.50 แสดงภาพการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ชนิด

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 (P. aeruginosa)



รูปที่ 4.51 แสดงภาพการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ชนิด

Candida albicans ATCC 10231 (C.albicans)

สรุปผลการศึกษาการต้านเชื้อจุลินทรีย์ผ่านสารละลายฯ พบว่า สารละลายฯมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อ S.aureus ดีที่สุด ถึงแม้ว่าสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทจะมีฤทธิ์ไม่ต่างจากสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโน แต่ในการใช้งาน สารละลายซิลเวอร์ไนเตรทจะไม่เสถียร และจะกลายเป็นสารละลายสีดำเมื่อปล่อยทิ้งไว้นาน แต่ในกรณีของสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนที่มีสารรักษาเสถียรภาพ สารรักษาเสถียรภาพ จะช่วยให้อนุภาคเงินมีความเสถียรภาพมากขึ้น ฉะนั้นสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนที่มีสารรักษาเสถียรภาพ เหมาะสมที่จะนำไปประยุกต์ใช้งานได้ดีกว่า

4.3.2 ศึกษาผ่านวัสดุ (ไส้กรอง)

เนื่องจากไส้กรองถูกใช้เพื่อดักจับฝุ่น,สารก่อให้เกิดโรคภูมิแพ้และยังเป็นปราการด่านแรกในการป้องกันเชื้อโรคบางชนิดจากเครื่องปรับอากาศ การใช้สารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนเคลือบลงบนไส้กรองเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการดักจับเชื้อโรค ซึ่งสามารถทำได้โดยการนำไส้กรองจุ่มเคลือบอนุภาคเงินระดับนาโน จากนั้นพึ่งไว้ให้แห้ง นำมาใช้งานได้ทันที

เพื่อเป็นการยืนยันผลการศึกษาการเคลือบอนุภาคเงินระดับนาโนลงบนไส้กรอง จึงใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron microscope: SEM) ในการยืนยันผล

โดยในงานวิจัยได้ทำการสังเคราะห์ทั้งสองแบบ เพื่อเป็นการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์โดยมีผลการศึกษาดังต่อไปนี้

4.3.2.วิธีเคมีสีเขียว

สำหรับการสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโนด้วยวิธีเคมีสีเขียวโดยการใช้สารรักษาเสถียรภาพ และนำไส้กรองจุ่มเคลือบด้วยเทคนิค (Layer – by – Layer : LbL) นาน 15, 60 และ 90 นาที จากนั้นศึกษาการยึดติดของอนุภาคเงินระดับนาโนบนไส้กรองและใช้สารรักษาเสถียรภาพ และความเข้มข้นดังต่อไปนี้