# บทที่ 3

# วิธีการดำเนินการทดลอง

## 3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

### 3.1.1 สารเคมี

1. ซิลเวอร์ไนเตรต (Silver nitrate, $AgNO_3$) – บริษัท Merck, ผลิตจากประเทศอเมริกา

2. กรดอะซิติก (Acetic acid, $CH_3COOH$) - บริษัท J.T.Baker, ผลิตจากประเทศจีน

3. โซเดียมอะซิเตรต (Sodium acetate, $CH_3COONa{\cdot}3H_2O$) - บริษัท Carlo ERBA, ผลิตจากประเทศฝรั่งเศส

4. พอลิเมทาคริลิคแอซิด โซเดียมซอลล์ โซลูชั่น (Poly(methacrylic acid)sodium salt solution, PMA, $(C_4H_6O_2)n$, 40%wt in water, d=1.251 g/ml) - บริษัท Sigma- Aldrich, ผลิตจากประเทศอเมริกา

5. พอลิอะคริลิค (Poly(acrylic acid), PAA, $(C_3H_4O_2)_n$) - บริษัท Sigma-Aldrich, ผลิตจากประเทศอเมริกา

6. พอลิ4-สไตรีน ซัลโฟนิค แอซิด โคมาเลอิก แอซิด โซเดียมซอลล์ (Poly(4-styrene sulfonic acid - co -maleic acid) sodium salt, CoPSS, $C_{12}H_{10}Na_2O_7S$) - บริษัท Sigma-Aldrich, ผลิตจากประเทศอเมริกา

7. โซเดียมซิเตรตไตรเบซิคไดไฮเดรต (Sodium citrate tribasic dyhydrate, citrate, $C_6H_5Na_3O_7{\cdot}2H_2O$) - บริษัท Sigma-Aldrich, ผลิตจากประเทศเบลเยี่ยม

8. พอลิ4-สไตรีนซันโฟนิกแอซิด (Poly (4-styrene sulfonic acid) sodium salt, PSS, $[CH_2CH(C_6H_4SO_3Na)]_n$) - บริษัท Sigma-Aldrich, ผลิตจากประเทศอเมริกา

9. พอลิไดอัลลิวไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ (Poly (diallyldimethyl ammonium chloride), PDAD, $C_8H_{16}ClN$, 20 wt% in $H_2O$, d=1.08 g/ml) - บริษัท Sigma-Aldrich, ผลิตจากประเทศอเมริกา

10. โซเดียมคลอไรด์ (Sodiumchloride, NaCl) - บริษัท Lobachemie, ผลิตจากประเทศอินเดีย

11. โซเดียมโบโรไฮไดรด์ (Sodium borohydride, $NaBH_4$) - บริษัท Fisher Scientific, ผลิตจากประเทศอเมริกา

12. สารละลายบัฟเฟอร์ 4 และ 7 ที่มาพร้อมกับ pH meter เพื่อใช้ในการสอบเทียบ

13. กรดออกซาลิก (Oxalic acid Sodium salt Natriumoxalat, Oxalic, $C_2NaO_4$) - บริษัท Fluka, ผลิตจากประเทศเยอรมันนี

14. แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (Ammonium hydroxide, $NH_4OH$) - บริษัท Sigma-Aldrich, ผลิตจากประเทศอเมริกา

15. น้ำกลั่นปราศจากไอออน (น้ำกลั่น)

**3.1.2 วัสดุและอุปกรณ์**

1. บีกเกอร์

2. ขวดวัดปริมาตร

3. กระบอกน้ำกลั่น

4. ช้อนตักสาร

5. หลอดหยด

6. แท่งแก้วคนสาร

7. ไส้กรองเครื่องปรับอากาศ (ไส้กรอง)

8. แท่งแม่เหล็กกวนสาร

9. ไมโครปิเปตรุ่น SL-5000XLS และSL-1000XLS - บริษัท Rainin

**3.1.3 เครื่องมือ**

1. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง - บริษัท AND รุ่น GR-200

2. Home-made Ultraviolet Lamp Box (UV-C Lamp Box) - บริษัท PHILIPS รุ่น TUV 16W/G16 T5

3. เครื่องกวนสาร และแท่งแม่เหล็ก (Stirrer and Magnetic Bar) - บริษัท IKA รุ่น C-MAG HS7

4. เครื่องวัดค่าพีเอช (pH - Meter) - บริษัท Metrohm รุ่น 827 pH lab

5. เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Ultra violet -Visible Spectrophotometer) - บริษัท Thermo SCIENTIFIC รุ่น GENESYS 10S UV-VIS

6. กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission Electron Microscope : TEM) - บริษัท JEOL รุ่น JEM-2100

7. กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron microscope : SEM) - บริษัท JEOL รุ่น JSM-6400

8. เครื่องวัดศักย์ไฟฟ้าซีต้า (Zetasizer Nano ZS) - บริษัท Malvern

**3.2 การเตรียมสารละลาย**

**3.2.1 สารละลายเพื่อการสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโนด้วยวิธีเคมีสีเขียว**

**3.2.1.1 สารละลายอะซิติกอะซิเตทบัฟเฟอร์ (สารละลายบัฟเฟอร์)**

เทสารละลายเกลืออะซิเตทความเข้มข้น 5 mM ปริมาตร 450 ml ใส่บีกเกอร์ขนาด 1,000 ml นำไปกวนสารด้วยเครื่องกวนสารนาน 5 นาที เทสารละลายกรดอะซิติกความเข้มข้น 5 mM ปริมาตร 450 ml ตามลงไป กวนสารด้วยเครื่องกวนสารนาน5 นาทีอีกครั้ง จุ่ม pH อิเล็กโทรดเพื่อตรวจวัดค่า pH ตามที่ต้องการ (ก่อนใช้ pH meter ต้องทำการสอบเทียบด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ 4 และ 7 ตามลำดับ) จะได้สารละลายอะซิติกอะซิเตทบัฟเฟอร์ที่สภาวะ pH 4.75 หากยังไม่ได้ ให้ปรับค่า pH ด้วย สารละลายที่เหลือ โดยขั้นตอนวิธีการเตรียมดูได้จากรูปที่ 3.1

**3.2.1.2 สารละลาย $AgNO_3$ ความเข้มข้น 10 mM**

ชั่ง $AgNO_3$ 1.699 g ใส่บีกเกอร์ขนาด 100 ml ละลายด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ 100 ml จากนั้นเทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 1,000 ml ปรับปริมาตรด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ โดยขั้นตอนวิธีการเตรียมดูได้จากรูปที่ 3.2

**3.2.1.3 สารละลายพอลิเมอร์ที่มีประจุทางไฟฟ้าชนิดลบ (Anionic Polyelectrolyte)**

*ก. สารรักษาเสถียรภาพที่มีสถานะเป็นของแข็ง*

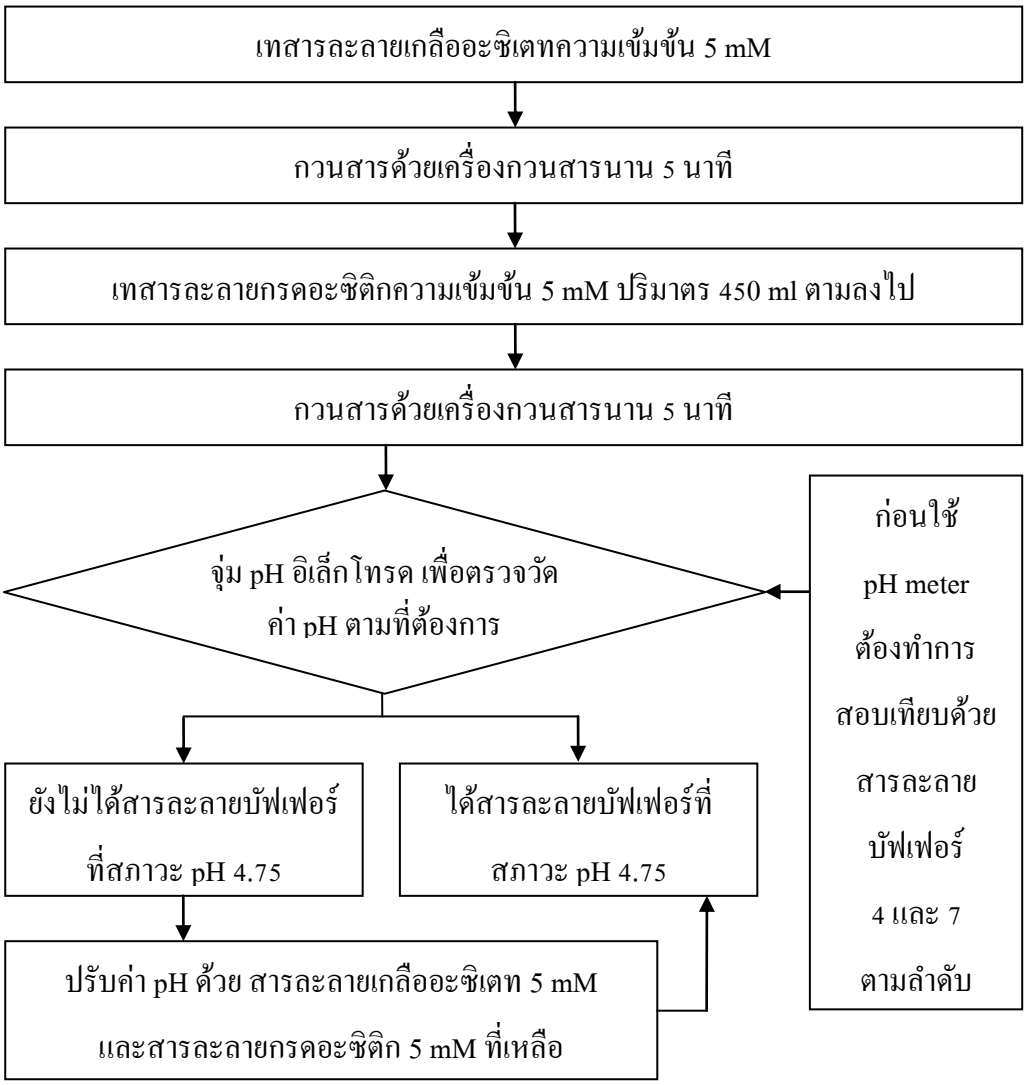
ชั่งสารรักษาเสถียรภาพ ใส่บีกเกอร์ขนาด 100 ml ละลายด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ ปริมาตร 50 ml เทใส่ขวดวัดปริมาตร 100 ml ปรับปริมาตรด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ เตรียมสารรักษาเสถียรภาพ 2 ชนิด โดยมีรายละเอียดตามตารางที่ 3.1 และขั้นตอนวิธีการเตรียมดูได้จากรูปภาพที่ 3.3

ข. *สารรักษาเสถียรภาพที่มีสถานะเป็นของเหลว*

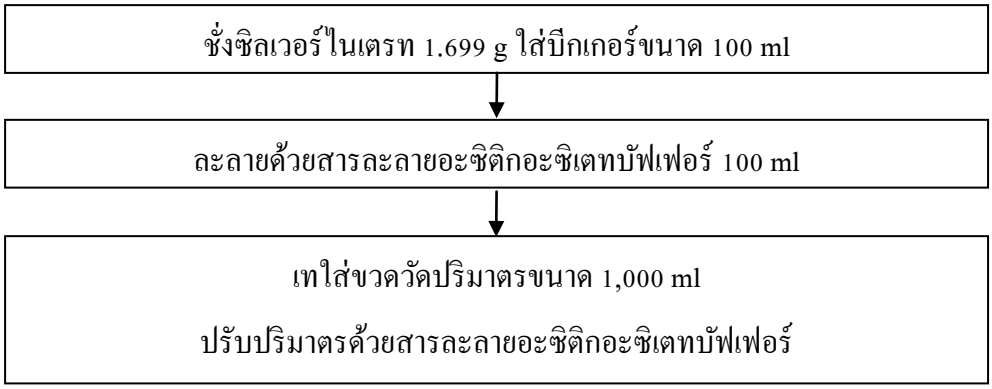
ตวงสารรักษาเสถียรภาพ ด้วยกระบอกตวงขนาด 10 ml ปริมาตร 2.16 ml เทใส่ขวดวัดปริมาตร 100 ml ปรับปริมาตรด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ โดยมีรายละเอียดตามตารางที่ 3.1 และขั้นตอนวิธีการเตรียมดูได้จากรูปที่ 3.3

| ลำดับที่ | สารรักษาเสถียรภาพ | น้ำหนักที่ใช้ |
|---|---|---|
| 1 | $PAA_{(s)}$ | 0.7206 g |
| 2 | $CoPSS_{(s)}$ | 3.4424 g |
| 3 | $PMA_{(aq)}$ | 2.16 ml |

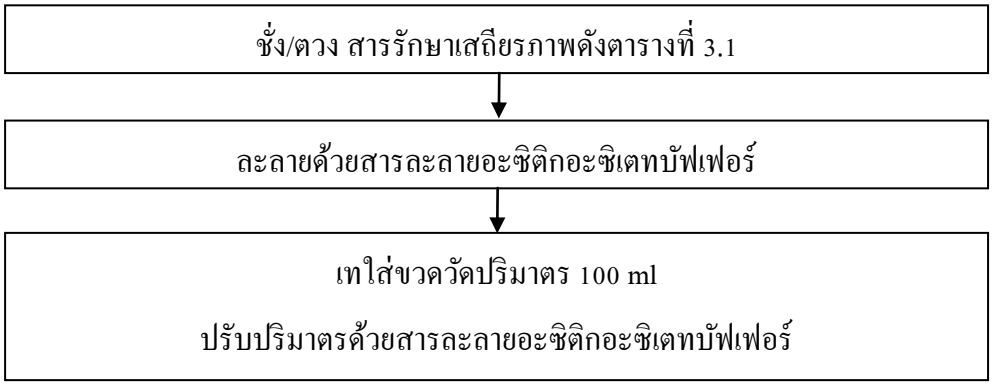
**ตารางที่ 3.1** แสดงสารรักษาเสถียรภาพที่ใช้ในการสังเคราะห์ด้วยวิธีเคมีสีเขียว




**รูปที่ 3.1** แผนภูมิแสดงการเตรียมสารละลายอะซิติกอะซิเตทบัฟเฟอร์(สารละลายบัฟเฟอร์)




**รูปที่ 3.2** แผนภูมิแสดงการเตรียมสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท

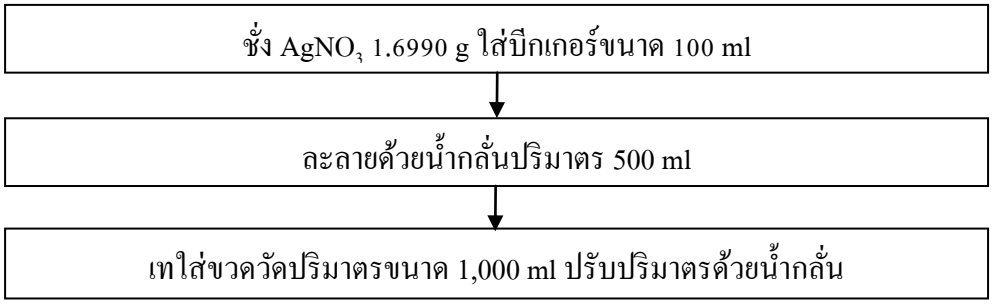



**รูปที่ 3.3** แผนภูมิแสดงการเตรียมสารรักษาเสถียรภาพ

### 3.2.2 สารละลายเพื่อการสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโนด้วยวิธีทางเคมี

#### 3.2.2.1 สารละลาย $AgNO_3$ ความเข้มข้น 100 mM

ชั่ง $AgNO_3$ 1.6990 g ใส่บีกเกอร์ขนาด 100 ml ละลายด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 500 ml เทใส่ขวดวัดปริมาตร 1,000 ml ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น โดยขั้นตอนวิธีการเตรียมดูได้จากรูปภาพที่ 3.4




**รูปที่ 3.4** แผนภูมิแสดงการเตรียมสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท

**3.2.2.2 สารละลายพอลิเมอร์ที่มีประจุทางไฟฟ้าชนิดลบ (Anionic Polyelectrolyte)**

*ก. สารรักษาเสถียรภาพที่มีสถานะเป็นของแข็ง*

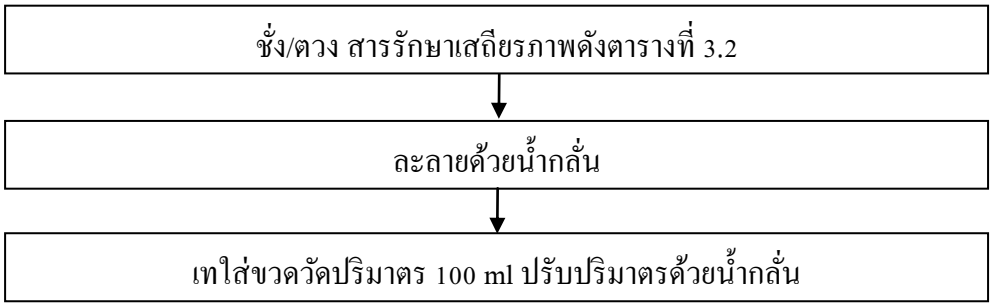
ชั่งสารรักษาเสถียรภาพ ใส่บีกเกอร์ขนาด 100 ml ละลายด้วยน้ำกลั่น ปริมาตร 50 ml เทใส่ขวดวัดปริมาตร 100 ml ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เตรียมสารรักษาเสถียรภาพ 2 ชนิด โดยมีรายละเอียดตามตารางที่ 3.2 และขั้นตอนวิธีการเตรียมดูได้จากรูปที่ 3.5

ข. *สารรักษาเสถียรภาพที่มีสถานะเป็นของเหลว*

ตวงสารรักษาเสถียรภาพ ด้วยกระบอกตวงขนาด 10 ml ปริมาตร 2.16 ml เทใส่ขวดวัดปริมาตร 100 ml ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น โดยมีรายละเอียดตามตารางที่ 3.1 และขั้นตอนวิธีการเตรียมดูได้จากรูปที่ 3.5

| ลำดับที่ | สารรักษาเสถียรภาพ | น้ำหนักที่ใช้ |
|---|---|---|
| 1 | $PAA_{(s)}$ | 0.7206 g |
| 2 | $CoPSS_{(s)}$ | 3.4424 g |
| 3 | $PMA_{(aq)}$ | 2.16 ml |
| 4 | $Citrate_{(s)}$ | 2.9406 g |

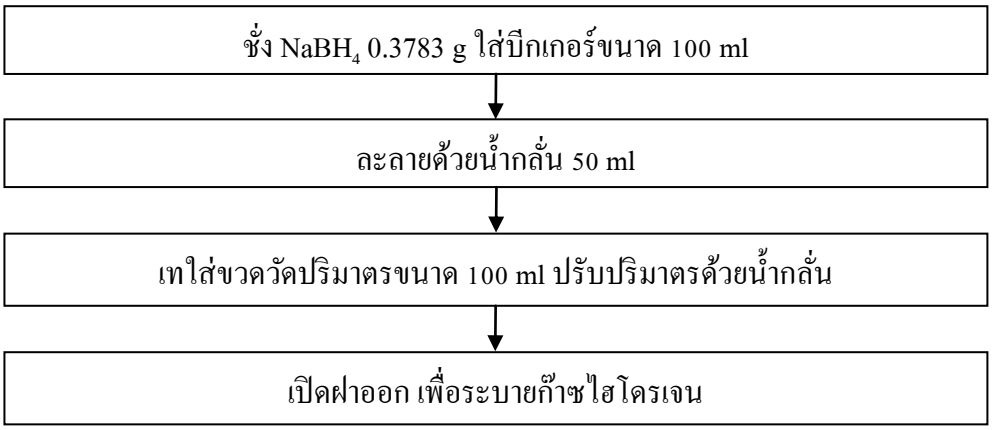
**ตารางที่ 3.2** แสดงสารรักษาเสถียรภาพที่ใช้ในการสังเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมี




**รูปที่ 3.5** แผนภูมิแสดงการเตรียมสารรักษาเสถียรภาพ

**3.2.2.3 สารละลายโซเดียมโบโรไฮไดรด์ ($NaBH_4$) ความเข้มข้น 100 mM**

ชั่ง $NaBH_4$ 0.3783 g ใส่บีกเกอร์ขนาด 100 ml ละลายด้วยน้ำกลั่น 50 ml เทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 ml ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เปิดฝาออก เพื่อระบายก๊าซไฮโดรเจน โดยขั้นตอนวิธีการเตรียมดูได้จากรูปที่ 3.6




**รูปที่ 3.6** แผนภูมิแสดงการเตรียมสารละลายโซเดียมโบโรไฮไดรด์

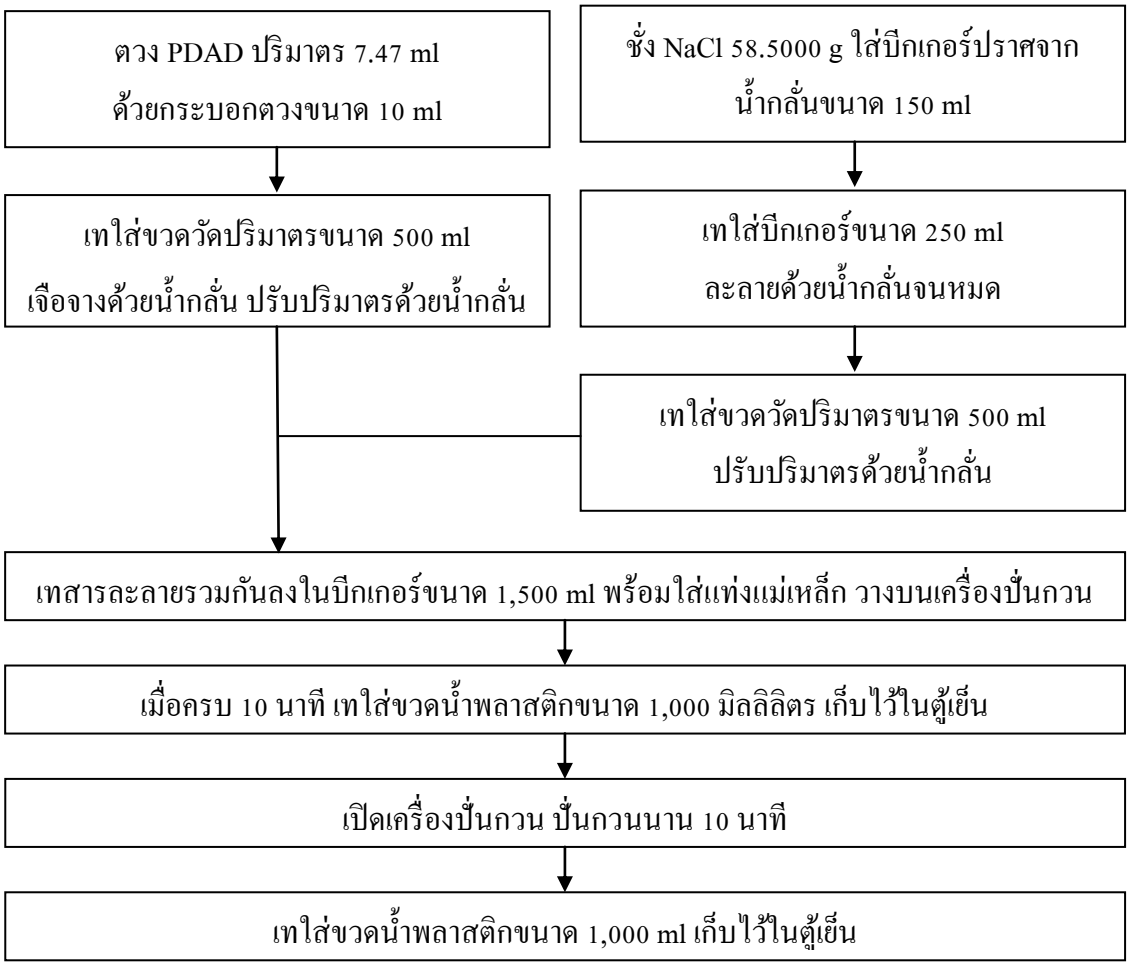
**3.2.3 สารละลายและเตรียมความพร้อมบนพื้นผิวของวัสดุ (ไส้กรอง)**

**3.2.3.1 สารละลาย PDAD ความเข้มข้น 10 mM**

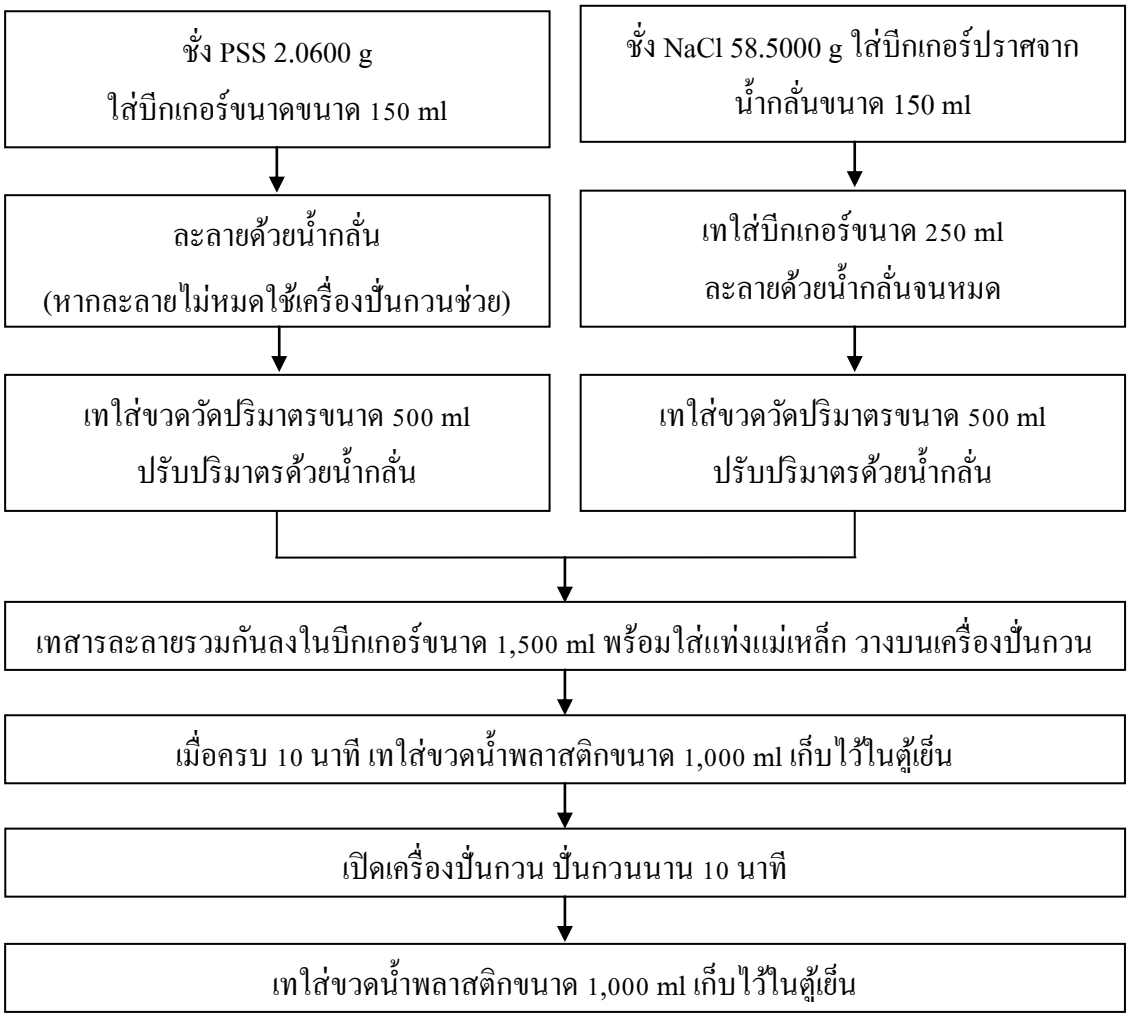
ตวง PDAD ปริมาตร7.47 ml ด้วยกระบอกตวงขนาด 10 ml เทใส่ขวดวัดปริมาตร 500 ml เจือจางด้วยน้ำกลั่นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ตั้งพักไว้ จากนั้นชั่ง NaCl 58.5000 g ใส่บีกเกอร์ปราศจากน้ำกลั่นขนาด 150 ml เทใส่บีกเกอร์ขนาด 250 ml ละลายด้วยน้ำกลั่นจนหมด เทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 500 ml ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเทใส่บีกเกอร์ ขนาด 1,500 ml ใส่แท่งแม่เหล็ก วางบนเครื่องปั่นกวน เทสารละลาย PDAD ที่เตรียมไว้ในขวดวัดปริมาตร 500 ml ในตอนแรก ตามลงไป เปิดเครื่องปั่นกวน ปั่นกวนนาน 10 นาที เมื่อครบ 10 นาที เทใส่ขวดน้ำพลาสติกขนาด 1,000 ml เก็บไว้ในตู้เย็น โดยขั้นตอนวิธีการเตรียมดูได้จากรูปที่ 3.7

**3.2.3.2 สารละลาย PSS ความเข้มข้น 10 mM**

ชั่ง PSS 2.0600 g ใส่บีกเกอร์ขนาด 150 ml ละลายด้วยน้ำกลั่นปริมาตร200 ml (หากละลายไม่หมดอาจใช้เครื่องปั่นกวนช่วยในการละลาย) เทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 500 ml ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ตั้งพักไว้ จากนั้นชั่ง NaCl 58.5000 g ใส่บีกเกอร์ปราศจากน้ำกลั่นขนาด 150 ml เทใส่บีกเกอร์ขนาด 250 ml ละลายด้วยน้ำกลั่นจนหมด เทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 500 ml ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เทใส่บีกเกอร์ ขนาด 1,500 ml ใส่แท่งแม่เหล็ก วางบนเครื่องปั่นกวน เทสารละลาย PSS ที่เตรียมไว้ในขวดวัดปริมาตร 500 ml ในตอนแรก ตามลงไป เปิดเครื่องปั่นกวน ปั่นกวนนาน 10 นาที เมื่อครบ 10 นาที เทใส่ขวดน้ำพลาสติกขนาด 1,000 ml เก็บไว้ในตู้เย็น โดยขั้นตอนวิธีการเตรียมดูได้จากรูปที่ 3.8




**รูปที่ 3.7** แผนภูมิแสดงการเตรียมสารละลาย PDAD

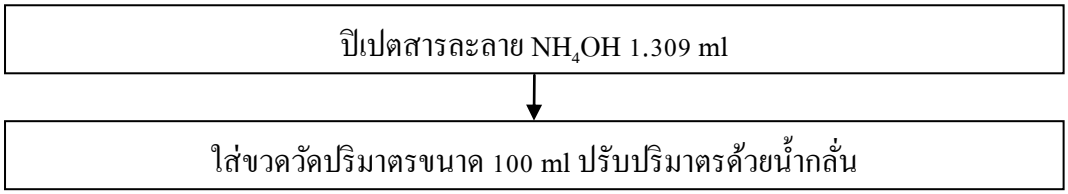



**รูปที่ 3.8** แผนภูมิแสดงการเตรียมสารละลาย PSS

**3.2.4 สารละลายเพื่อใช้เป็นตัวรับรู้**

**3.2.4.1 สารละลาย $NH_4OH$ ความเข้มข้น 100 mM**

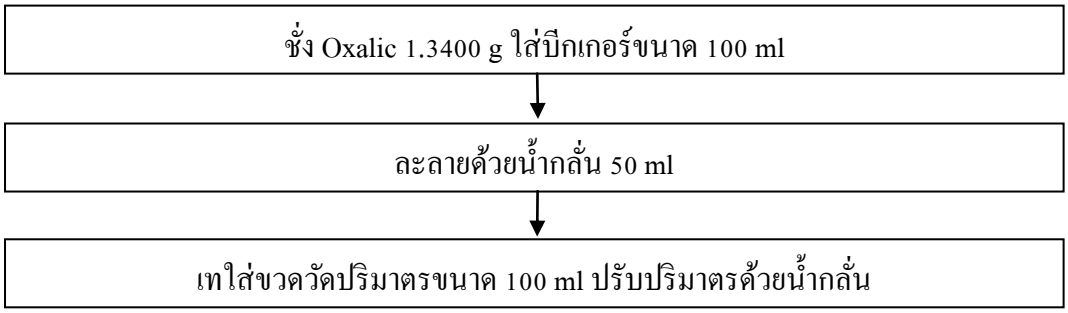
ปิเปตสารละลาย $NH_4OH$ 1.309 ml ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 ml ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น โดยขั้นตอนวิธีการเตรียมดูได้จากรูปที่ 3.9




**รูปที่ 3.9** แผนภูมิแสดงการเตรียมสารละลายแอมโนเนียมไฮดรอกไซด์

**3.2.4.2 สารละลาย Oxalic acid ความเข้มข้น 100 mM**

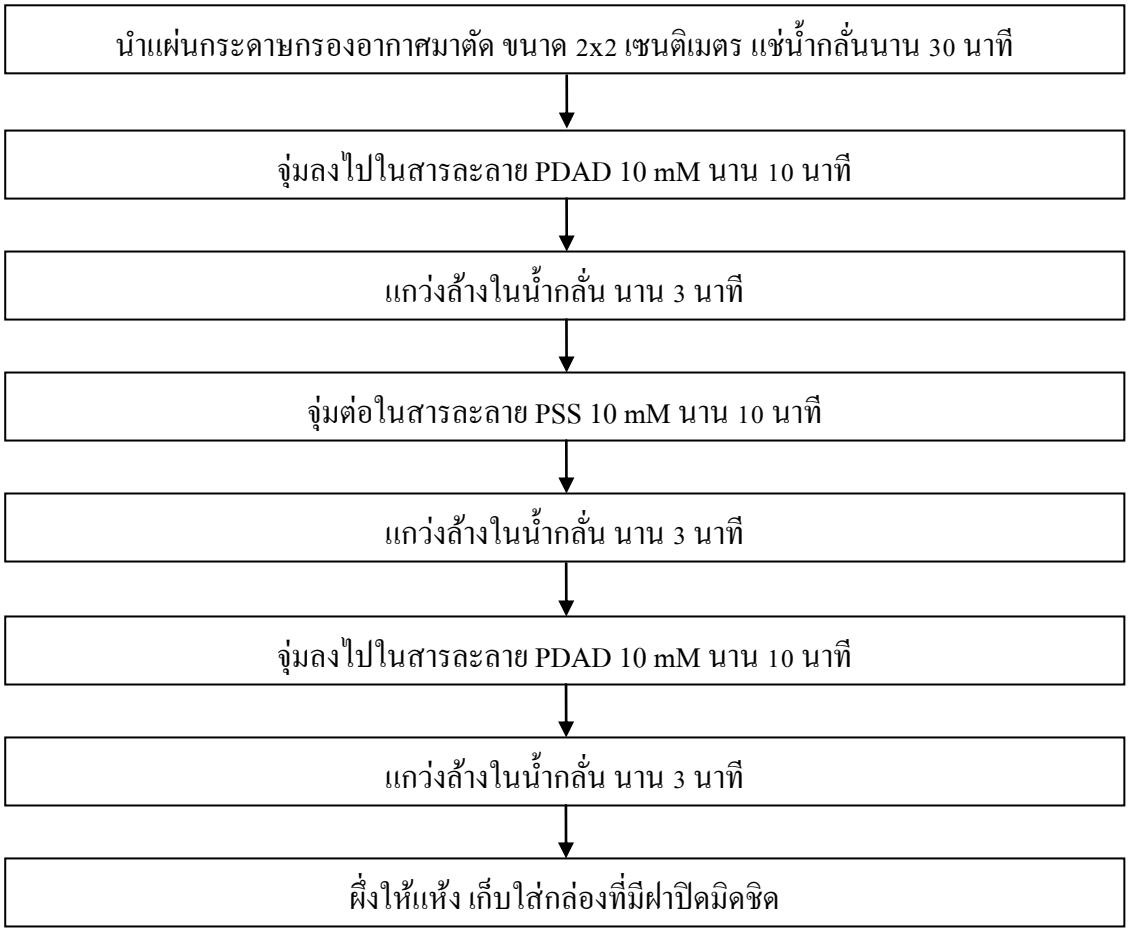
ชั่ง Oxalic 1.3400 g ใส่บีกเกอร์ขนาด 100 ml ละลายด้วยน้ำกลั่น 50 ml เทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 ml ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น โดยขั้นตอนวิธีการเตรียมดูได้จากรูปที่ 3.10




**รูปที่ 3.10** แผนภูมิแสดงการเตรียมสารละลายกรดออกซาลิก

**3.3 การเตรียมความพร้อมของไส้กรองเครื่องปรับอากาศ (ไส้กรอง)**

นำแผ่นกระดาษกรองอากาศมาตัด ขนาด 2x2 เซนติเมตร แช่น้ำกลั่นนาน 30 นาที จากนั้นจุ่มลงไปในสารละลาย PDAD 10 mM นาน 10 นาที แกว่งล้างในน้ำกลั่นนาน 3 นาที นำไปจุ่มต่อในสารละลาย PSS 10 mM นาน 10 นาที แกว่งล้างในน้ำกลั่นนาน 3 นาที และจุ่มลงไปในสารละลาย PDAD 10 mM อีกครั้งนาน 10 นาที แกว่งล้างในน้ำกลั่นนาน 3 นาที ผึ่งให้แห้ง เก็บใส่กล่องที่มีฝาปิดมิดชิด โดยขั้นตอนวิธีการเตรียมดูได้จากรูปที่ 3.11




**รูปที่ 3.11** แผนภูมิแสดงการเตรียมความพร้อมของไส้กรอง

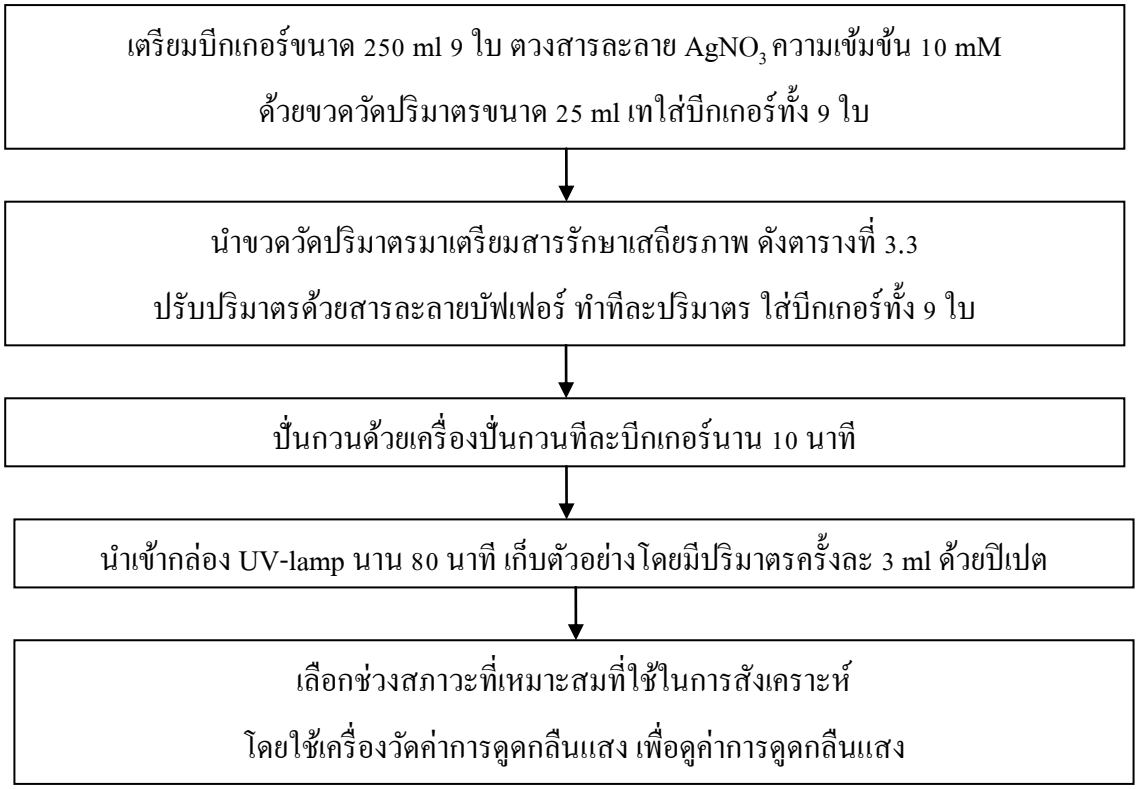
**3.4 การสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโน**

**3.4.1 วิธีเคมีสีเขียว (Photo Reduction)**

เตรียมบีกเกอร์ขนาด 250 ml 9 ใบ ตวงสารละลาย $AgNO_3$ ความเข้มข้น 10 mM ด้วยขวดวัดปริมาตรขนาด 25 ml เทใส่บีกเกอร์ทั้ง 9 ใบ นำขวดวัดปริมาตรมาเตรียมสารรักษาเสถียรภาพ ดังตารางที่ 3.3 ปรับปริมาตรด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ ทำทีละปริมาตร ใส่ลงในบีกเกอร์ที่มีสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนทั้ง 9 ใบ ตามลำดับ จากนั้นนำไปปั่นกวนด้วยเครื่องปั่นกวนทีละบีกเกอร์ นาน 10 นาที เมื่อครบทั้ง 9 ใบ จากนั้นนำเข้ากล่อง UV-lamp นาน 80 นาที เก็บตัวอย่างโดยมีปริมาตรครั้งละ 3 ml ด้วยปิเปต นำตัวอย่างที่เก็บตามเวลาดังกล่าว ไปเลือกช่วงสภาวะที่เหมาะสมที่ใช้ในการสังเคราะห์ โดยใช้เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง เพื่อดูค่าการดูดกลืนแสง โดยขั้นตอนวิธีการเตรียมดูได้จากรูปที่ 3.12

| ลำดับที่ | สารรักษาเสถียรภาพ | ปริมาตรที่ใช้ (ml) | เวลาที่เก็บตัวอย่าง (นาทีที่) |
|---|---|---|---|
| 1 | PAA | 0.25, 0.50, 0.75, 1.00, 1.25, 2.25, 3.25, 4.25, และ 5.00 | 0, 5, 7, 10, 20, 30, 40, 50, 60 และ70 |
| 2 | CoPSS | | |
| 3 | PMA | | 0, 5, 7, 10, 20, 30, 40, 50, 60 และ80 |

**ตารางที่ 3.3** แสดงชนิด, ปริมาตร และจำนวนนาทีที่เก็บตัวอย่างของสารรักษาเสถียรภาพ ที่ใช้ในการสังเคราะห์ด้วยวิธีเคมีสีเขียว




**รูปที่ 3.12** แผนภูมิแสดงการสังเคราะห์ด้วยวิธีเคมีสีเขียว

### 3.4.2 วิธีทางเคมี (Chemical Synthesis)

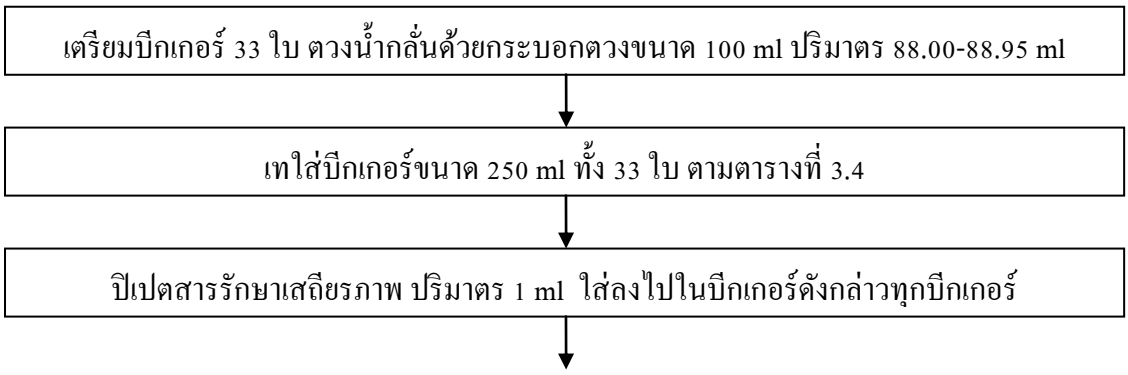
เตรียมบีกเกอร์ 33 ใบ ตวงน้ำกลั่นด้วยกระบอกตวงขนาด 100 ml ปริมาตร 88.00-88.95 ml เทใส่บีกเกอร์ขนาด 250 ml ทั้ง 33 ใบ ตามตารางที่ 3.4 จากนั้นใช้ปิเปต ปิเปตสารรักษาเสถียรภาพ ปริมาตร 1 ml ใส่ลงไปในบีกเกอร์ดังกล่าวทุกบีกเกอร์ ใส่แท่งแม่เหล็กและนำบีกเกอร์แต่ละใบ ไปวางบนเครื่องปั่นกวน และปิเปตสารละลาย AgNO3 ความเข้มข้น 100 ml ปิเปตมา 1 ml ใส่ตามลงไป เปิดเครื่องปั่นกวนนาน 5 นาที ระหว่างที่รอให้ตวงสารละลายโซเดียมโบโรไฮไดรด์ด้วย

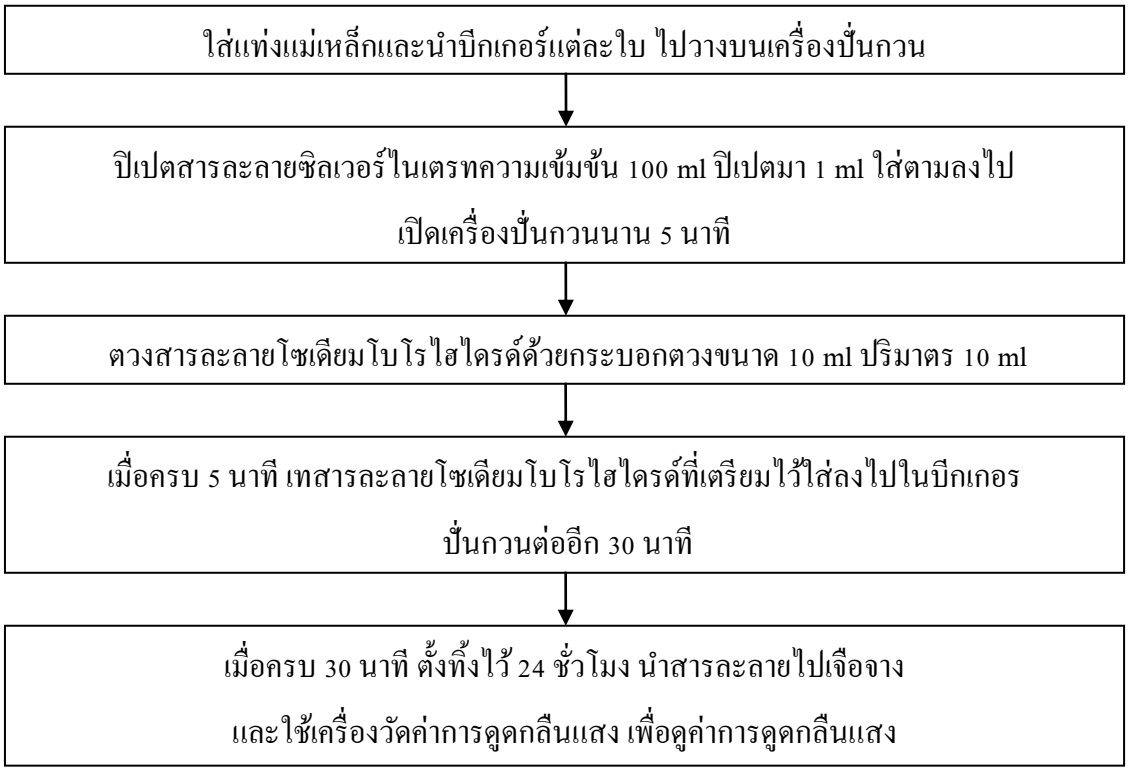
กระบอกตวงขนาด 10 ml ปริมาตร 10 ml เมื่อครบ 5 นาที เทสารละลายโซเดียมโบโรไฮไดรด์ที่เตรียมไว้ใส่ลงไปในบีกเกอร์ ปั่นกวนต่ออีก 30 นาที เมื่อครบ 30 นาที ตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง นำสารละลายไปเจือจาง และใช้เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง เพื่อดูค่าการดูดกลืนแสง โดยขั้นตอนวิธีการเตรียมดูได้จากรูปภาพที่ 3.13

| **สารรักษาเสถียรภาพ** | **บีกเกอร์ที่** | **อัตราส่วนของ $AgNO_3$(ml) : สารรักษาเสถียรภาพ(ml) : $NaBH_4$(ml)** |
|---|---|---|
| PAA | 1 | 1 : 0.05 : 10 |
| | 2 | 1 : 0.07 : 10 |
| | 3 | 1 : 0.09 : 10 |
| | 4 | 1 : 0.1 : 10 |
| | 5 | 1 : 0.3 : 10 |
| | 6 | 1 : 0.5 : 10 |
| | 7 | 1 : 0.7 : 10 |
| | 8 | 1 : 0.9 : 10 |
| | 9 | 1 : 1 : 10 |
| | 10 | 1 : 3 : 10 |
| | 11 | 1 : 5 : 10 |
| CoPSS | 12 | 1 : 0.05 : 10 |
| | 13 | 1 : 0.07 : 10 |
| | 14 | 1 : 0.09 : 10 |
| | 15 | 1 : 0.1 : 10 |
| | 16 | 1 : 0.3 : 10 |
| | 17 | 1 : 0.5 : 10 |
| | 18 | 1 : 0.7 : 10 |

| สารรักษาเสถียรภาพ | บีกเกอร์ที่ | อัตราส่วนของ $AgNO_3$(ml) : สารรักษาเสถียรภาพ(ml) : $NaBH_4$(ml) |
|---|---|---|
| CoPSS | 19 | 1 : 0.9 : 10 |
| | 20 | 1 : 1 : 10 |
| | 21 | 1 : 3 : 10 |
| | 22 | 1 : 5 : 10 |
| PMA | 23 | 1 : 0.05 : 10 |
| | 24 | 1 : 0.07 : 10 |
| | 25 | 1 : 0.09 : 10 |
| | 26 | 1 : 0.1 : 10 |
| | 27 | 1 : 0.3 : 10 |
| | 28 | 1 : 0.5 : 10 |
| | 29 | 1 : 0.7 : 10 |
| | 30 | 1 : 0.9 : 10 |
| | 31 | 1 : 1 : 10 |
| | 32 | 1 : 3 : 10 |
| | 33 | 1 : 5 : 10 |

**ตารางที่ 3.4** แสดงชนิด และอัตราส่วนของสารที่ใช้ในการสังเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมี






**รูปที่ 3.13** แผนภูมิแสดงการสังเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมี

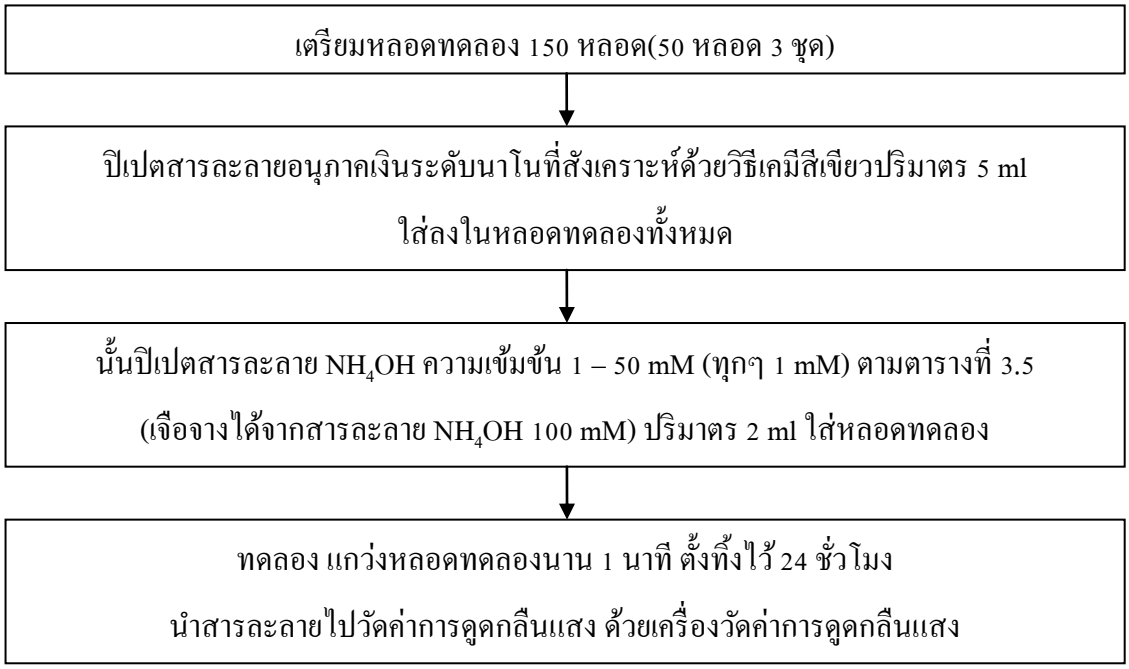
### 3.5 การประยุกต์ใช้สารละลายอนุภาคเงินระดับนาโน

#### 3.5.1 ศึกษาความสามารถในการรับรู้สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ($NH_4OH$)

เตรียมหลอดทดลอง 150 หลอด (50 หลอด 3 ชุด) ปิเปตสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนที่สังเคราะห์ด้วยวิธีเคมีสีเขียวปริมาตร 5 ml ใส่ลงในหลอดทดลองทั้งหมด จากนั้นปิเปตสารละลาย $NH_4OH$ ความเข้มข้น 1 – 50 mM (ทุกๆ 1 mM) ตามตารางที่ 3.5 (เจือจางได้จากสารละลาย $NH_4OH$ 100 mM) ปริมาตร 2 ml ใส่หลอดทดลอง แกว่งหลอดทดลองนาน 1 นาที ตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง นำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยขั้นตอนวิธีการเตรียมดูได้จากรูปที่ 3.14

| สารรักษาเสถียรภาพ | หลอดทดลองที่ | ความเข้มข้นของตัวรับรู้ $NH_4OH$ (mM) |
|---|---|---|
| PAA | 1-50 (ชุดที่1) | 1 - 50 |
| CoPSS | 51-100 (ชุดที่2) | 1 - 50 |
| PMA | 101-150 (ชุดที่3) | 1 - 50 |

**ตารางที่ 3.5** แสดงสารรักษาเสถียรภาพและความเข้มข้นของตัวรับรู้ $NH_4OH$



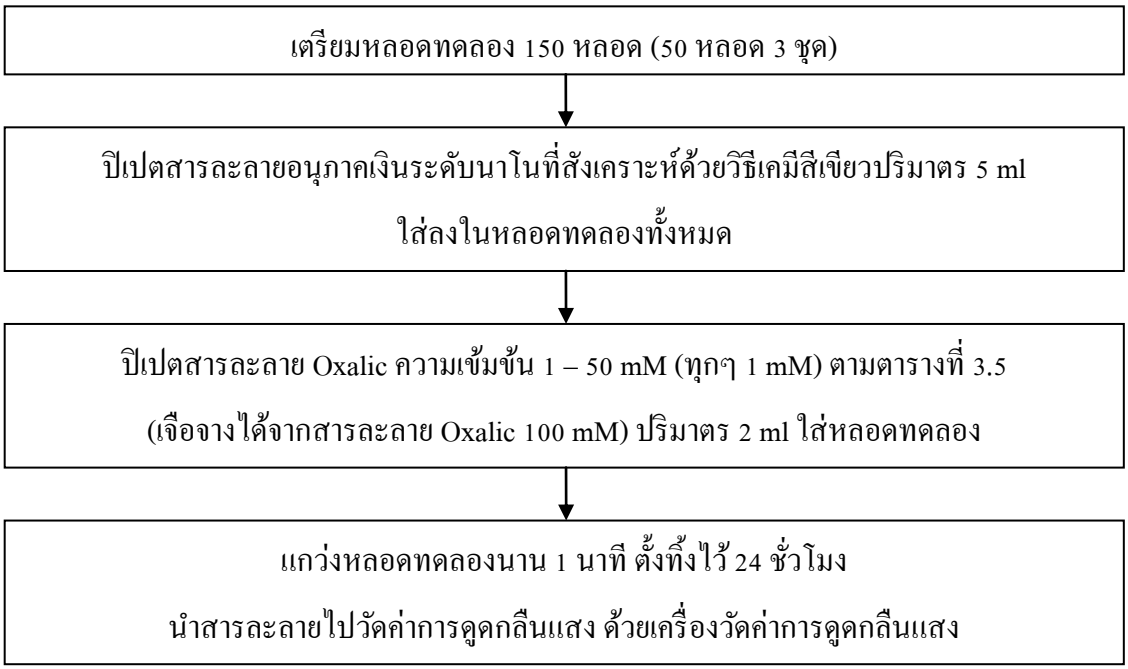

**รูปที่ 3.14** แผนภูมิแสดงการประยุกต์ใช้ตัวรับรู้สารละลาย $NH_4OH$

### 3.5.1 ศึกษาความสามารถในการรับรู้สารละลายกรดออกซาลิก (Oxalic)

เตรียมหลอดทดลอง 150 หลอด (50 หลอด 3 ชุด) ปิเปตสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนที่สังเคราะห์ด้วยวิธีเคมีสีเขียวปริมาตร 5 ml ใส่ลงในหลอดทดลองทั้งหมด จากนั้นปิเปตสารละลาย Oxalic ความเข้มข้น 1 – 50 mM (ทุกๆ 1 mM) ตามตารางที่ 3.6 (เจือจางได้จากสารละลาย Oxalic 100 mM) ปริมาตร 2 ml ใส่หลอดทดลอง แกว่งหลอดทดลองนาน 1 นาที ตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง นำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยขั้นตอนวิธีการเตรียมดูได้จากรูปที่ 3.15

| สารรักษาเสถียรภาพ | หลอดทดลองที่ | ความเข้มข้นของตัวรับรู้ Oxalic (mM) |
|---|---|---|
| PAA | 1-50 (ชุดที่1) | 1 - 50 |
| CoPSS | 51-100 (ชุดที่2) | 1 - 50 |
| PMA | 101-150 (ชุดที่3) | 1 - 50 |

**ตารางที่ 3.6** แสดงสารรักษาเสถียรภาพและความเข้มข้นของตัวรับรู้ Oxalic




**รูปที่ 3.15** แผนภูมิแสดงการประยุกต์ใช้ตัวรับรู้สารละลาย Oxalic

### 3.5.3 การประยุกต์ใช้กับการต้านเชื้อจุลินทรีย์

#### 3.5.3.1 สารละลาย

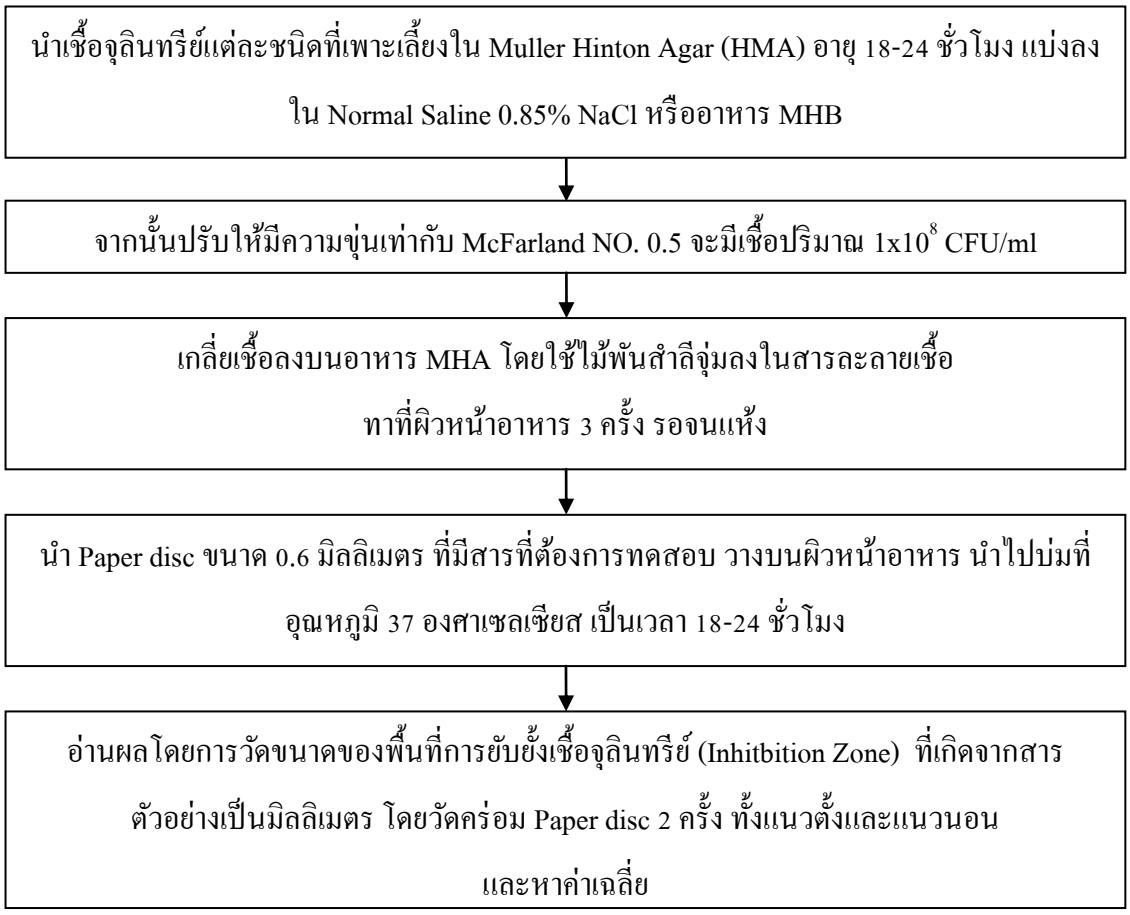
การทดสอบการออกฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนที่สังเคราะห์ได้ ทำได้โดยการใช้วิธี Agar dis diffusion เพื่อวัดพื้นที่การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโน (Inhitbition Zone) สารละลายที่เราใช้ทดสอบ คือ สารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนที่สังเคราะห์ด้วยวิธีเคมีสีเขียวโดยมีสารรักษาเสถียรภาพ PMA ความเข้มข้น 7 mM, PAA ความเข้มข้น 9 mM, CoPSS ความเข้มข้น 7 mM และสารละลายอนุภาคเงินที่ไม่มีสารเพิ่มความคงตัว 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 มีวิธีทำดังนี้

1. นำเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดที่เพาะเลี้ยงใน Muller Hinton Agar (HMA) อายุ 18-24 ชั่วโมง แบ่งลงใน Normal Saline 0.85% NaClหรืออาหาร MHB จากนั้นปรับให้มีความขุ่นเท่ากับ McFarland NO. 0.5 จะมีเชื้อปริมาณ $1x10^8$ CFU/ml

2. เกลี่ยเชื้อลงบนอาหาร MHA โดยใช้ไม้พันสำลีจุ่มลงในสารละลายเชื้อ แล้วนำไปทาที่ผิวหน้าอาหาร 3 ครั้ง รอจนแห้ง

3. นำ Paper disc ขนาด 0.6 มิลลิเมตร ที่มีสารที่ต้องการทดสอบ วางบนผิวหน้าอาหาร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

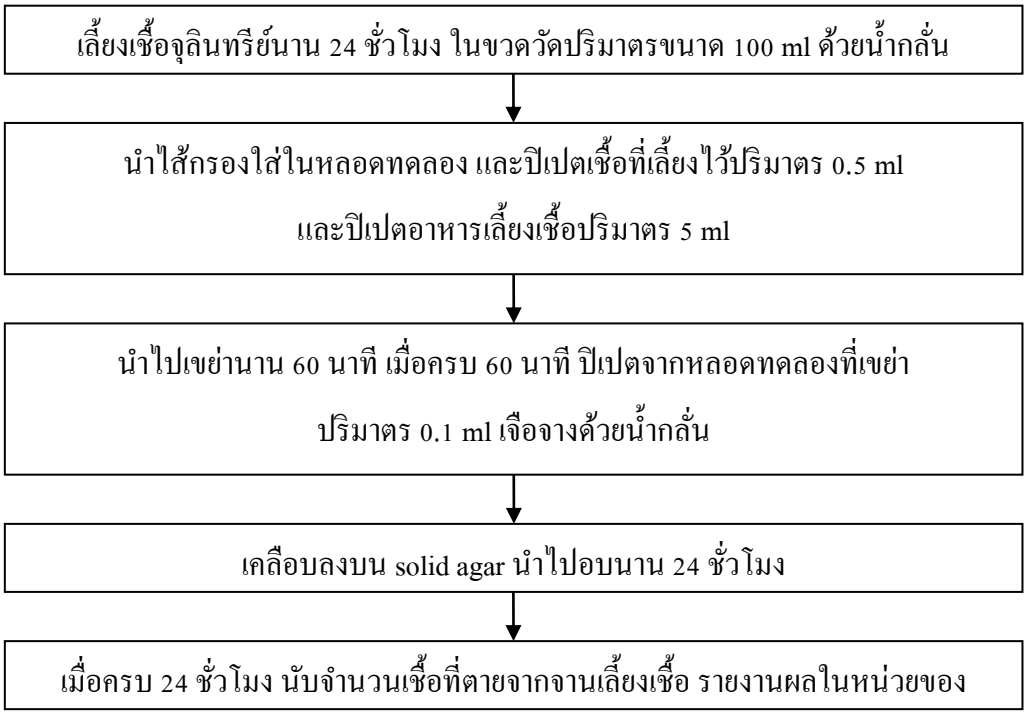
4. อ่านผลโดยการวัดขนาดของพื้นที่การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (Inhitbition Zone) ที่เกิดจากสารตัวอย่างเป็นมิลลิเมตร โดยวัดคร่อม Paper disc 2 ครั้ง ทั้งแนวตั้งและแนวนอน และหาค่าเฉลี่ย โดยขั้นตอนวิธีการเตรียมดูได้จากรูปที่ 3.16




**รูปที่ 3.16** แผนภูมิแสดงการประยุกต์ใช้กับการต้านเชื้อจุลินทรีย์ผ่านสารละลาย

**3.5.3.2 จุ่มเคลือบบนไส้กรอง**

เลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์นาน 24 ชั่วโมง ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 ml ด้วยน้ำกลั่น เมื่อครบ 24 ชั่วโมง นำไส้กรองใส่ในหลอดทดลอง และปิเปตเชื้อที่เลี้ยงไว้ปริมาตร 0.5 ml และปิเปตอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 5 ml ใส่ตามลงไป จากนั้นนำไปเขย่านาน 60 นาที เมื่อครบ 60 นาที ปิเปตจากหลอดทดลองที่เขย่าปริมาตร 0.1 ml เจือจางด้วยน้ำกลั่น จากนั้นเคลือบลงบน solid agar นำไปอบนาน 24 ชั่วโมง เมื่อครบ 24 ชั่วโมง นับจำนวนเชื้อที่ตายจากจานเลี้ยงเชื้อ รายงานผลในหน่วยของ %reduction of bacteria โดยขั้นตอนวิธีการเตรียมดูได้จากรูปที่ 3.17




**รูปที่ 3.17** แผนภูมิแสดงการประยุกต์ใช้กับการต้านเชื้อจุลินทรีย์ผ่านการจุ่มเคลือบบนไส้กรอง