การสังเคราะห์ ศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารประกอบของไดเมทิลไกลออกซามเมทัลนาโนพาร์ติเคิล

Synthesis, Physicochemical Characterization, and Biological Evaluation of Dimethyl Glyoxime Metal Nanoparticles

โดย

สมหมาย ปะติตังโข และคณะ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนา

มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

2556

เลขที่สัญญา 19/2555

การสังเคราะห์ ศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารประกอบของไดเมทิลไกลออกซามเมทัลนาโนพาร์ติเคิล

Synthesis, Physicochemical Characterization, and Biological Evaluation of Dimethyl Glyoxime Metal Nanoparticles

โดย

สมหมาย ปะติตังโข

กิ่งแก้ว ปะติตังโข

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนา

มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

2556

แบบเสนอโครงการวิจัย (Research project)

เพื่อเสนอขอรับทุนอุดหนุนการวิจัยภายในระดับคณะ ประจำปีงบประมาณ 2555

ชื่อโครงการวิจัย

(ภาษาไทย) การสังเคราะห์ ศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารประกอบของไดเมทิลไกลออกซามเมทัลนาโนพาร์ติเคิล

(ภาษาอังกฤษ) Synthesis, Physicochemical Characterization, and Biological Evaluation of Dimethyl Glyoxime Metal Nanoparticles

<u>ส่วน ก</u> : ลักษณะแผนงานวิจัย

โครงการวิจัยใหม่

โครงการวิจัยระยะเวลา 8 เดือน

I ระบุความสอดคล้องของโครงการวิจัยกับยุทธศาสตร์การพัฒนาประเทศตามแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคม แห่งชาติ ฉบับที่ 11 (พ.ศ. 2555-2559)

ยุทธศาสตร์ที่ 1 การสร้างศักยภาพและความสามารถเพื่อการพัฒนาทางสังคม

1.1.1 ส่งเสริมสุขภาพ การป้องกันโรคอุบัติใหม่ การรักษาพยาบาล การฟื้นฟูสมรรถภาพทางกายและจิตใจ การพึ่งพาตนเองด้านสุขภาพ รวมถึงการคุ้มครองผู้บริโภค

(1) สนับสนุนการวิจัยและพัฒนาคุณภาพของยาตัวใหม่ โดยส่งเสริมการใช้ด้านนาโนวิทยาศาสตร์เข้าช่วยในการเพิ่มประสิทธิผลของยาให้มีการออกฤทธิ์ที่ดียิ่งขึ้น

II ระบุความสอดคล้องของโครงการวิจัยกับนโยบายและยุทธศาสตร์การวิจัยของชาติ ฉบับที่ 8 (พ.ศ. 2555-2559)

ยุทธศาสตร์การวิจัยที่ 3 การสร้างศักยภาพและความสามารถเพื่อการพัฒนาทางวิทยาการและทรัพยากรบุคคล

กลยุทธ์การวิจัยที่ 1 พัฒนานวัตกรรมและองค์ความรู้ใหม่ทางวิทยาศาสตร์ ทางสังคมศาสตร์และการพัฒนาองค์ความรู้ใหม่ในวิทยาการต่าง ๆ

แผนงานวิจัยที่ 1 การวิจัยและพัฒนานวัตกรรมสิ่งประดิษฐ์และองค์ความรู้ใหม่ทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี เช่น เทคโนโลยีชีวภาพ วัสดุศาสตร์ เทคโนโลยีสารสนเทศและสื่อสาร นาโนเทคโนโลยี วิทยาศาสตร์การแพทย์และสาธารณสุข สัตว์ทดลองและวิธีการอื่นเพื่อทดแทนการใช้สัตว์ เทคโนโลยีด้านอาวุธยุทโธปกรณ์ เป็นต้น

III ระบุความสอดคล้องของโครงการวิจัยกับกลุ่มเรื่องที่ควรวิจัยเร่งด่วนตามนโยบายและยุทธศาสตร์การวิจัยของชาติ (พ.ศ. 2555-2559)

กลยุทธ์การวิจัยที่ 3 ส่งเสริมสุขภาพ การป้องกันโรคอุบัติใหม่ การรักษาพยาบาล การฟื้นฟูสมรรถภาพทางกายและจิตใจ การพึ่งพาตนเองด้านสุขภาพ รวมถึงการคุ้มครองผู้บริโภค

แผนงานวิจัยที่1 การวิจัยเกี่ยวกับการส่งเสริมสุขภาพและเพิ่มประสิทธิภาพการให้บริการทางการแพทย์และสาธารณสุข

IV ระบุความสอดคล้องของโครงการวิจัยกับแผนยุทธศาสตร์การวิจัยมหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ (พ.ศ. 2553 - 2555)

ประเด็นยุทธศาสตร์ที่ 1 ยุทธศาสตร์การบริหารงานวิจัยมหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

กลยุทธ์ข้อที่ 1 สร้างและเพิ่มขีดความสามารถนักวิจัยทุกระดับให้มีศักยภาพในการดำเนินการวิจัยอย่างมีคุณภาพเพื่อสร้างผลงานที่ใช้ประโยชน์ได้จริง

ประเด็นยุทธศาสตร์ที่ 2 ยุทธศาสตร์การวิจัยเพื่อพัฒนาทั้งพื้นที่ บนฐานภูมิปัญญาท้องถิ่น และสากล

กลยุทธ์ข้อที่ 1 สร้างระบบสนับสนุนการวิจัยเพื่อพัฒนาท้องถิ่น โดยเน้นการวิจัยบนฐาน ความอยากรู้ ฐานการแก้ไขปัญหา ฐานการพัฒนา และการวิจัยเชิงพื้นที่

ส่วน ข. : องค์ประกอบของโครงการวิจัย

1. ชื่อหัวหน้าโครงการ: ดร.สมหมาย ปะติตังโข.....

ตำแหน่ง อาจารย์..... สังกัด...มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์.....

โทรศัพท์..044 611221 ต่อ130..... โทรสาร..044 612 858.....

โทรศัพท์เคลื่อนที่..089 7201597..... Email: psommai63@yahoo.com....

มีหน้าที่ในการดำเนินงานวิจัยในทุกขั้นตอนตั้งแต่สำรวจกลุ่มประชากรที่ประสบปัญหาการติดเชื้อโรคจากแบคทีเรียที่มาพร้อมกับภัยน้ำท่วม และออกแบบการทดลอง สังเคราะห์สาร จากนั้นนำมาศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ และทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในมนุษย์ ด้วยเทคนิค In vitro ในห้องปฏิบัติการ จัดทำรายงาน สรุปผลการวิจัย เตรียม Manuscript preparation เพื่อการเผยแพร่

สัดส่วนที่ทำงานวิจัยคิดเป็นร้อย 70 %

1.1 ชื่อผู้ร่วมโครงการ: ผศ.ดร. กิ่งแก้ว ปะติตังโข

ตำแหน่ง ผู้ช่วยศาสตราจารย์..... สังกัด...มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์...

โทรศัพท์..044 611221 ..... โทรสาร..044 612 858.....

โทรศัพท์เคลื่อนที่ 083 1298283..... Email: kpatittung@yahoo.com

มีหน้าที่ในการร่วมศึกษากระบวนการสังเคราะห์สารในระดับนาโน ออกแบบการทดลอง ร่วมทดลอง ทดสอบฤทธิ์ของสารสังเคราะห์ สรุปผลการวิจัย

สัดส่วนที่ทำงานวิจัยคิดเป็นร้อย 30 %

2. ประเภทการวิจัย

การวิจัยประยุกต์ (Applied research)

3. สาขาวิชาการและกลุ่มวิชาที่ทำการวิจัย

สาขาวิทยาศาสตร์เคมีและเภสัช

4. คำสำคัญ (Keywords) ของโครงการวิจัย

Dimethyl glyoxime, Nanoparticles, Biological evaluation, Reducing ageuts, และ Metal complexes

5. หลักการและเหตุผล

ในปัจจุบันประเทศทั่วโลกได้พัฒนาเทคโนโลยีที่ทันสมัยเพื่อเป็นเครื่องอำนวยความสะดวกของประชากรทั้งทางด้านการติดต่อสื่อสาร การคมนาคม การเกษตร การศึกษา และการรักษาทางการแพทย์ แต่ในขณะเดียวกันโรคภัยไข้เจ็บก็เกิดขึ้นมาทำร้ายคน และสัตว์อยู่เรื่อยๆ เช่น โรคมะเร็ง ในปีที่ 2549 มีผู้ป่วยด้วยโรคนี้จำนวน 2,219 ราย (Hospital-Based Cancer Registry,2549) โรคไข้หวัดนก โรคเอดส์ โรคซาร์ นอกจากนี้ยังมีโรคร้ายอีกมากมายที่มี

สาเหตุมาจากสารอนุมูลอิสระ (Free radicals) เช่นโรคที่เกี่ยวข้องกับการเสื่อม ความบกพร่องของเซลล์ประสาท ระบบสื่อประสาทในสมอง และสภาวะขาดเลือดของอวัยวะที่สำคัญต่อการดำรงชีวิต เช่น หัวใจและสมอง ที่สำคัญคืออนุมูลอิสระทำลายสารชีวโมเลกุลที่สำคัญในร่างกายและมีความว่องไวต่อการถูกออกซิไดซ์ ทำให้สมบัติและการทำงานเปลี่ยนไป เกิดการบกพร่อง หรือถูกทำลาย อันเป็นต้นเหตุของการเกิดโรคชนิดต่างๆ (โอภา วัชระคุปต์, 2549) ในขณะเดียวกันพวกแบคทีเรียก็ได้สร้างความเดือดร้อนทำให้เกิดโรคอีกมากมาย เช่น โรคอุจจาระร่วง (Diarrheal diseases) โรคติดเชื้อของระบบทางเดินปัสสาวะ ไส้ติ่งอักเสบ เยื่อบุช่องท้องอักเสบ แผลติดเชื้อ โลหิตติดเชื้อ ซึ่งเนื่องมาจากแบคทีเรียกลุ่ม *E. coli* ทำให้สร้างความเสียหายอย่างมากทั้งด้านสังคม ด้านเศรษฐกิจและด้านสุขภาพอนามัย เป็นสาเหตุจูงใจให้นักวิทยาศาสตร์ทุกด้านพยายามศึกษาค้นคว้าหาความรู้หรือแก้ปัญหานี้อย่างเคร่งครัด เช่น ในปี 2550 ได้มีการค้นพบสารสกัดที่มีความสามารถในการต้านอนุมูล DPPH จากเปลือกต้นวงศ์อบเชยมีค่า EC_{50} สูงกว่า BHT ซึ่งเป็นสารแอนติออกซิแดนต์ที่ยอมรับกันและเป็นสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน

ความรู้ทางด้านวิทยาศาสตร์และนาโนเทคโนโลยี ซึ่งเกี่ยวข้องกับกระบวนการจัดการ การสร้าง การสังเคราะห์วัสดุ อุปกรณ์เครื่องจักรหรือสิ่งต่างๆ ที่มีขนาดเล็กมากประมาณ 1 ถึง100 นาโนเมตร ซึ่งความรู้ทางด้านนาโนเทคโนโลยี สามารถนำมาใช้จัดเรียงอะตอมหรือโมเลกุลเข้าด้วยกันอย่างถูกต้องแม่นยำ ส่งผลให้โครงสร้างของวัสดุหรือสารต่างๆ มีสมบัติที่พิเศษขึ้นทั้งทางด้านกายภาพ เคมี และชีวภาพ ที่เป็นประโยชน์ต่อผู้ใช้สอยและเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจได้ นาโนเทคโนโลยีเป็นเทคโนโลยีที่เป็นความหวังใหม่ของมวลมนุษยชาติ เพราะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างมากมายและหลากหลายมากขึ้น การนำนาโนเทคโนโลยีไปใช้ประโยชน์เป็นการบูรณาการศาสตร์หลากหลายแขนงเข้าด้วยกัน เช่น อิเล็กทรอนิกส์ วัสดุศาสตร์ และเทคโนโลยีชีวภาพ ซึ่งกำลังพัฒนาอยู่อย่างต่อเนื่องและนับวันจะเข้ามามีบทบาทในชีวิตประจำวันมากขึ้น ไม่ว่าผลิตภัณฑ์ที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการขจัดโรคภัยไข้เจ็บ ผลิตภัณฑ์ในการชะลอความแก่ เครื่องสำอาง คอมพิวเตอร์ นาโนไบโอเซนเซอร์ เส้นใยนาโน อนุภาคนาโน นาโนเทคโนโลยีเกี่ยวกับพลังงาน นาโนเทคโนโลยีเกี่ยวกับสิ่งแวดล้อม และนาโนเทคโนโลยีที่เกี่ยวกับการเกษตรและอาหาร เป็นต้น

จากเหตุผลและความจำเป็นดังกล่าวข้างต้น ทำให้คณะผู้วิจัยสนใจที่จะนำสาร Dimethyl glyoxime (DMG) มารีดิวซ์เกลือของโลหะทองแดงและเหล็ก เป็นการผสมผสานองค์ความรู้ทางด้านนาโนวิทยาศาสตร์และนาโนเทคโนโลยี ซึ่งจะได้ผลิตภัณฑ์ที่อยู่ในระดับอนุภาคนาโน แล้วนำไปทดสอบสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ (physico-chemical properties) และฤทธิ์ทางชีวภาพ (biological properties) ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Salmonella*, และ *Staphylococcus aureus* โดยใช้เทคนิค In vitro และทดสอบความเป็นพิษของสารดังกล่าวด้วย ผลที่ได้จากการวิจัยในครั้งนี้จะได้แนวทางในการพัฒนาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในระดับนาโนมีประสิทธิภาพสูง ที่จะนำไปพัฒนาเป็นยารักษาโรคในมนุษย์ สัตว์และพืชเศรษฐกิจ ตลอดจนเครื่องสำอางและวัสดุอุปกรณ์ที่ปลอดเชื้อต่างๆ ต่อไป

6. วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

6.1 เพื่อศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ (Physico-chemical properties) ของอนุภาคนาโนที่มีตัวรีดิวส์เป็น Dimethyl glyoxime และมีลิแกนด์ช่วยเป็นฟีแนนโทรลีน

6.2 เพื่อศึกษาการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Biological investigation) ของสารในข้อ 6.1 ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย
ที่ก่อโรคในมนุษย์

6.3 ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารที่สังเคราะห์ได้ โดยใช้ normal Vero cell line

7. ขอบเขตการดำเนินงาน

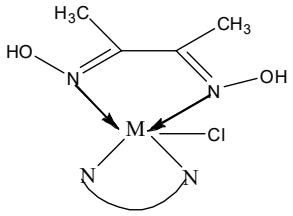
ขอบเขตของโครงการวิจัย

การวิจัยในครั้งนี้มีขอบเขตและผลที่ได้รับในระยะเวลาต่างๆซึ่งแสดงรายระเอียดได้ดังนี้

7.1 ขั้นที่ 1 (เดือนที่1-2)

7.1.1 สำรวจเอกสาร เครื่องมือ สั่งซื้อสารเคมี

7.1.2 นำสาร Dimethyl glyoxime มารีดิวซ์ $CuCl_2$ และ $FeCl_3$ โดยมีลิแกนด์ช่วย คือ Phenanthroline hydrate จะได้ Dimethyl glyoxime metal-nanoparticles อย่างน้อย 2 ตัว



แผนภาพทั่วไปสำหรับการสังเคราะห์ Dimethyl glyoxime metal nanoparticles

7.2 ขั้นที่ 2 (เดือนที่ 3-4)

7.1.3 ศึกษาทางสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ การละลาย ธาตุองค์ประกอบ (Elemental analysis, EA), FTIR, UV-Vis spectroscopy, Melting point เป็นต้น ของ Dimethyl glyoxime metal-nanoparticles

7.1.4 ศึกษาสมบัติทางมอร์โฟลีกีของอนุภาคที่สังเคราะห์ได้ด้วยเครื่อง Atomic Force Microscope (AFM) และหรือ SEM

7.1.5 รายงานความก้าวหน้า

7.3 ขั้นที่ 3 (เดือนที่ 5-6)

7.1.6 ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคของมนุษย์ ได้แก่ *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Salmonella*, และ *Staphylococcus aureus* ด้วยเทคนิค In vitro

7.1.7 ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ (Normal Vero cell line) ของอนุภาคนาโนที่สังเคราะห์ได้

ขั้นที่ 4 (เดือนที่ 7-8)

7.1.6 เตรียมข้อมูลหรือเอกสาร สรุปประโยชน์ของ Dimethyl glyoxime metal nanoparticles ให้ง่ายต่อการเรียนรู้และเข้าใจได้อย่างง่ายๆ

7.1.7 เตรียมต้นฉบับ (Manuscript preparation) เพื่อตีพิมพ์ในวารสารที่มี Impact factor

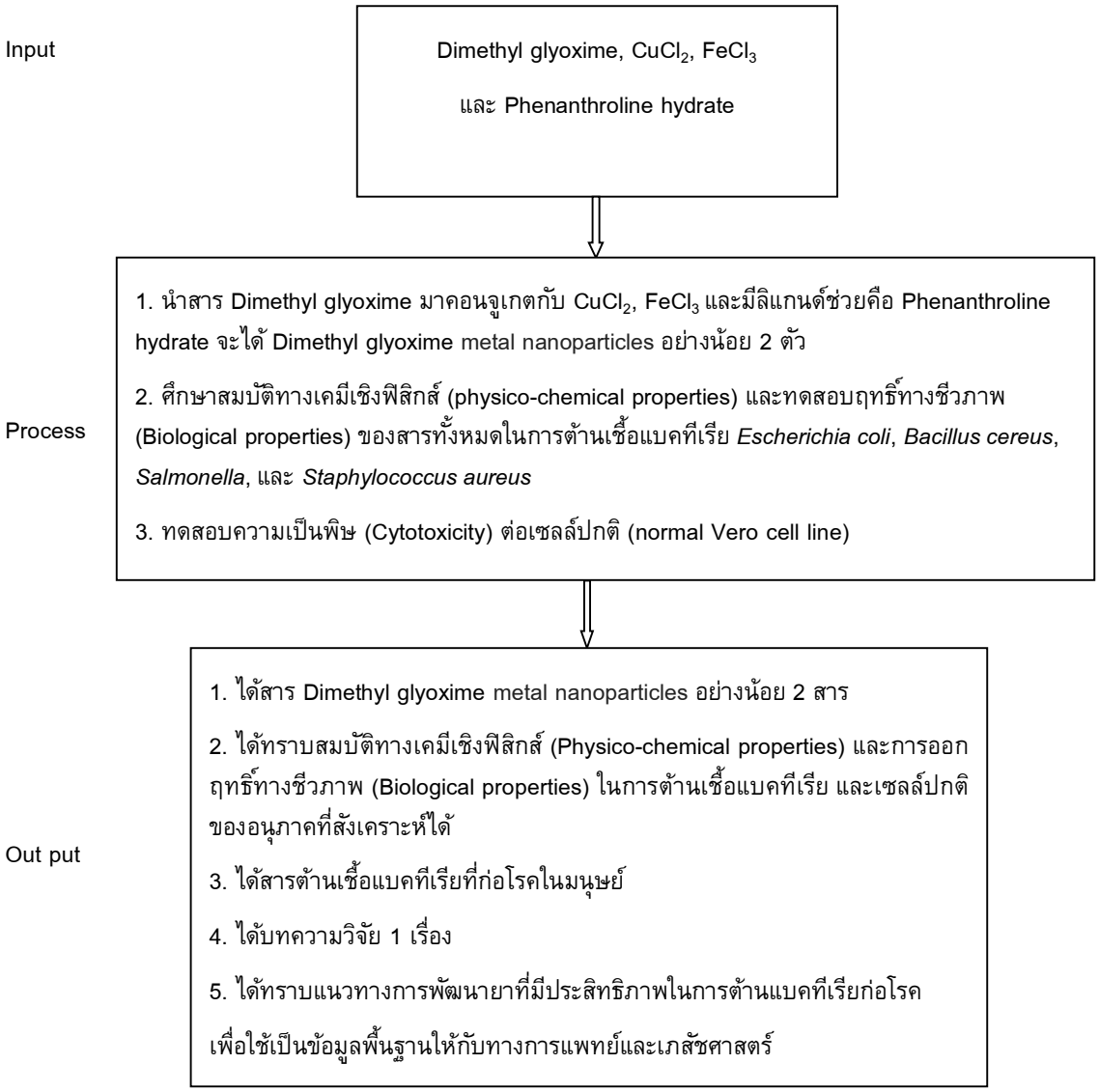
7.1.8 เตรียมจดสิทธิบัตรหรืออนุสิทธิบัตร

8. ทฤษฎี สมมติฐาน (ถ้ามี) และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

ทฤษฎี : ยาที่จะนำมาใช้ในการต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในมนุษย์ เมื่อมีโลหะอยู่ด้วยซึ่งจะทำให้สารเหล่านี้มีความจำเพาะเจาะจง (Selectibe action) สูง มีฤทธิ์ทางยาสูงขึ้น (Enhancement of activity) ใช้ในปริมาณที่น้อยลงก็ยังออกฤทธิ์ได้ดี (Lowering of therapeutic dosage) ไม่มีความเป็นพิษ (Lowering of subsequent toxicities) จึงทำให้ยาเหล่านี้ออกฤทธิ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

สมมุติฐาน : สาร Dimethyl glyoxime metal nanoparticles น่าจะเป็นสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่า parent compound

กรอบแนวคิดของโครงการวิจัย



9. การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (Information) ที่เกี่ยวข้อง

สุขภาพร่างกายที่แข็งแรงของคนไทยเป็นหัวใจสำคัญในการดำรงชีวิต เมื่อสุขภาพร่างกายแข็งแรงจะทำให้อยู่ดี มีสุข และมีจิตใจที่แข็งแรงสมบูรณ์ตลอดจนเกิดความคิดกลยุทธ์ใหม่ๆ ที่จะทำให้ประเทศเกิดการพัฒนา เนื่องจากในปัจจุบันเกิดสภาวะแวดล้อมที่มีความเปลี่ยนแปลงด้านภูมิอากาศ ทำให้เกิดโรคต่างๆ ตามมาทั้งโรคกลับซ้ำ และอุบัติใหม่ จนทำให้ร่างกายไม่สามารถปรับตัวเข้ากลับสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงได้ ดังนั้นการเลือกใช้ยาที่พัฒนาขึ้นมาจากอนุภาคนาโน จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งเพราะประเทศไทยของเราเป็นประเทศที่พัฒนาในด้านของนาโนเทคโนโลยีที่ก้าวล้ำและทันสมัย ปัจจุบันการพัฒนายาโดยอาศัยองค์ความรู้ทางด้านนาโน

เทคโนโลยีกำลังได้รับความสนใจจากห้องปฏิบัติการทั่วโลก เนื่องจากยาที่พัฒนาด้วยระบบนี้น่าจะเป็นทางเลือกใหม่ที่จะนำมาใช้ในการรักษาโรคให้กับมวลมนุษยชาติ ซึ่งสารแต่ละตัวจะมีความจำเพาะเจาะจง (Selective action) สูง มีฤทธิ์ทางยาสูงขึ้น (Enhancement of activity) ใช้ในปริมาณที่น้อยลงก็ยังออกฤทธิ์ได้ดี (Lowering of therapeutic dosage) ไม่มีความเป็นพิษ (Lowering of subsequent toxicities)

การศึกษาวิจัยทางด้านการสังเคราะห์สารในอนุภาคนาโนเทคโนโลยีมีนักวิทยาศาสตร์มากมายหลายกลุ่มได้ดำเนินการอยู่ในห้องปฏิบัติการต่างๆ ทั่วทุกมุมของโลก เพื่อเป้าหมายเดียวกันคือ การพัฒนาเพิ่มฤทธิ์ให้เป็นยารักษาโรคมนุษย์รวมทั้งใช้ประโยชน์ในด้านอื่นๆ ในที่นี้จะให้รายละเอียดเกี่ยวกับการศึกษาของกลุ่มที่สอดคล้องกับการวิจัย ดังนี้

Kostova *et al.* (Kostova, Irena *et al*., 2005, 542) ทำการสังเคราะห์สารประกอบของ Lanthanum (III) กับ bis-coumarins ศึกษาสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ด้วยเทคนิค EA, IR, ^{1}H-และ ^{13}C-NMR และ mass-spectral data ตามลำดับ โดยสเปกตรัมของสารประกอบเหล่านี้เทียบกับลิแกนด์อิสระ พบว่า La(III) ทำปฏิกิริยากับลิแกนด์ที่ตำแหน่ง deprotonated hydroxyl ทั้ง 2 หมู่ สำหรับ Cytotoxicity ใช้เทคนิค MTT assay กับ HL-60, BV-173 และ SKW-3 cell lines ผลที่ได้พบว่าสารประกอบเหล่านี้เป็นตัวทำให้เกิดการตายของเซลล์ (Trigger programmed cell death หรือ apoptosis)

Das *et al*. (Das, Manash R. *et al*., 2011, 16-22) ได้สังเคราะห์เงินนาโนในสารละลายที่มีแผ่นแกรฟีนออกไซด์ และศึกษาการต้านแบคทีเรีย ผลพบว่า ขนาดและรูปร่างของอนุภาคเงินนาโนขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารละลาย $AgNO_3$ ส่วนการต้านแบคทีเรีย พบว่า อนุภาคเงินนาโนต้านแบคทีเรีย *E. coli* และ *P. aeruginosa* ทั้งในอาหาร Broth และ Agar plate

DiSilvestra *et al*. (DiSilvestra, R.A. *et al*., 2005, 251) ศึกษาผลการต้านอนุมูลอิสระของ soy isoflavone พบว่าช่วยป้องกันการกลับซ้ำของโรคมะเร็งเต้านมได้ แต่ isoflavone ที่ออกฤทธิ์คล้าย estrogen อาจจะเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งเต้านม การออกฤทธิ์เช่นนี้ของ isoflavone เป็นผลมาจากเอนไซม์ 2 ชนิดที่มี copper อยู่คือ superoxide dismutase 1 (SOD 1; ทำหน้าที่ต้านอนุมูลอิสระจึงป้องกันโรคมะเร็งเต้านมได้) และ ceruloplasmin (เพิ่มการผลิต estrogen เมื่อมีมากจึงเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งเต้านม) จากการศึกษาทางระบาดวิทยาของสตรีเอเชียถึงความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดมะเร็งเต้านมและอาหารที่มีถั่ว พบว่า ผู้หญิงเซียงไฮ้ที่มี isoflavone จากปัสสาวะมีปริมาณน้อยในสตรีที่เป็นมะเร็งเต้านม เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แสดงว่าสตรีที่บริโภคถั่วปริมาณน้อยมีโอกาสเกิดโรคมะเร็ง

Al-Haiza *et al*. (Al-Haiza, M.A. *et al*., 2003, 275) ใช้ coumarins เป็นกลุ่มของสารอินทรีย์ที่สำคัญในการใช้ประโยชน์ เช่น ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (bactericides), ฆ่าเชื้อรา (fungicides), ต้านการอักเสบ (anti-inflammatory), anticoagulant และ anticancer agents สมบัติทางเภสัชวิทยาเหล่านี้ทำให้นักวิจัยสนใจที่จะสังเคราะห์อนุพันธ์ใหม่ๆ ให้มีมากยิ่งขึ้นไปอีก โดยมีลักษณะที่แตกต่างกันที่วง heterocyclic ที่เชื่อมต่ออยู่กับ coumarin (coumarin moiety)

He, Lili *et al*. (2011) ได้แสดงให้เห็นว่า ZnO nanoparticles ที่มีขนาดอนุภาค 70 $\pm$ 15 nm สามารถต้านเชื้อราที่เกิดกับผลผลิตหลังการเก็บเกี่ยว 2 ชนิด คือ *Botrytis cinerea* และ *Penicillium expasum* ได้ดี และนอกจากนี้ยังพบว่า ZnO nanoparticles มีสมบัติในการออกฤทธิ์เป็นแบบ concentration dependence (คือความเข้มข้นเพิ่มขึ้นฤทธิ์การต้านเชื้อราเพิ่มขึ้น) อีกด้วย โดยกลไกการออกฤทธิ์ของ ZnO คือสามารถช่วยให้เกิดการสร้างสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ที่บริเวณผิวหน้าของ ZnO ที่ได้รับแสง จะเกิด electron hole pairs (e^- - h^+) แล้วรูนี้ก็จะปลอดปล่อยน้ำออกมา จากนั้นโมเลกุลของน้ำจะแตกตัวเป็น OH^- และ H^+ แล้วเข้าทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนไอออนต่อไปได้ H_2O_2 จากนั้น H_2O_2 นี้จะเข้าสู่ cell membrane และทำให้เชื้อราตายในที่สุด

Smid, Eddy J., et al. (1995) ได้นำสารสกัดจากสมุนไพรชนิดต่างๆ รวม 15 ชนิด มาทดสอบการต้านเชื้อรา *Penicillium hirsutum* ของดอกทิวลิป (Tulip) พบว่า เมื่อจุ่มดอกทิวลิปลงไปในสารละลายของซินนามาลดีไฮด์ เข้มข้น 3.9 mM สามารถลดเชื้อราลงได้ 40 เท่า นอกจากนั้นสารละลายดังกล่าวยังรักษาคุณภาพของดอกไม้ได้ดีอีกด้วย

นอกจากนั้นยังพบว่า กลไกการออกฤทธิ์โดยสมุนไพรเข้าไปรบกวนกระบวนการสังเคราะห์ cell wall และทำลาย cell wall ด้วยการทำให้เกิดอนุมูลอิสระ (Interference of fungal cell wall and cell wall destruction plus radical scavenging effect)

จากข้อมูลข้างต้นจะเห็นได้ว่า ผลิตภัณฑ์ที่ได้เมื่อนำไปรีดิวซ์กับ Essential metal elements จะทำให้ได้อนุภาคที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพอย่างกว้างขวาง (Broad spectrum) ทั้งการต้านมะเร็ง ต้านแบคทีเรีย ต้านเชื้อราที่ก่อโรคทั้งมนุษย์ สัตว์ และพืช ซึ่งสอดคล้องกับการสังเคราะห์ยาในระดับนาโนที่คณะผู้วิจัยเคยดำเนินการมาแล้วและกำลังจะดำเนินการศึกษาค้นคว้าต่อไป ในส่วนของการทดลองการต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในมนุษย์นั้น สารที่ได้จากการสังเคราะห์ในระดับอนุภาคนาโนจะทำให้เซลล์ของเชื้อแบคทีเรียตายโดยรบกวนการทำงานของ DNA Gyrase และ Topoisomerase enzyme ทำให้ DNA ไม่สามารถดำเนินกิจกรรมสำคัญต่อการดำรงชีวิต เช่น การซ่อมแซม หรือการจำลองตัวเอง (Replication หรือ transcription) ได้ นอกจากนั้นอนุภาคของโลหะยังสามารถเข้าสู่ Haber-Weiss cycle หรือ Fenton reaction เพื่อผลิต ROS (reactive oxygen species) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ของเชื้อโรค

จากผลงานวิจัยของกลุ่มต่างๆ ดังกล่าว รวมทั้งของกลุ่มคณะผู้วิจัยเองที่ได้ดำเนินการวิจัยเกี่ยวกับการออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย จึงทำให้ทีมงานมีความสนใจที่จะนำสารในกลุ่ม Glyoxime ซึ่งเป็นพวกที่มี Electron rich ไปรีดิวซ์เกลือของโลหะพวก Essential metal elements เช่น ทองแดง และเหล็ก พร้อมกับใช้ลิแกนด์ช่วยเป็น Phenanthroline hydrate แล้วนำไปทดสอบสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์และฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านแบคทีเรียก่อโรคกับมนุษย์ ความรู้ที่ได้จากการวิจัยจะเป็นข้อมูลให้วงการแพทย์และเภสัชที่จะนำไปทดสอบและพัฒนาเป็นยาที่มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

10. เอกสารอ้างอิงของโครงการวิจัย

หนังสือพิมพ์ไทยรัฐ. (2011). ค้นจาก (www.Thairath.co.th.2554)

นิพนธ์ อุดมสันติสุข.(2009). แบคทีเรียคืออะไร. ภาควิชาจุลศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Das, Manash R. *et al*., (2011). Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 83, 16-22.

He, Lili, *et al*., (2011). Microbiological Research, 166: 207-215.

R.A. DiSilvestra *et al*., (2005). Breast Cancer Research & Treatment, 89,251

M.A. Al-Haiza *et al*., (2003). Molecules, 8, 275.

Irena Kostova *et al*., (2005). EJ Med Chem., 40, 542.

Smid, Eddy J., et al., Postharvest Biology and Technology, 6: 303-312.

11. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

11.1 ได้ทราบสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์และฤทธิ์ทางชีวภาพของอนุภาคนาโนทองแดงและเหล็กในการออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

11.2 ได้สารต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคของมนุษย์ที่มาจากอนุภาคระดับนาโน

11.3 หน่วยงานด้านเภสัชศาสตร์ได้ทราบประโยชน์ของยาในระดับนาโน

12. แผนการถ่ายทอดเทคโนโลยีหรือผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมาย

หลังจากได้ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคต่อมนุษย์ในห้องปฏิบัติการแล้ว คณะผู้วิจัยจะนำไปใช้ในการเรียนการสอนในวิชาผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เคมีเภสัช นอกจากนี้ยังจะจัดประชุมและบรรยาย สรุปผลที่ได้ให้กับหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง เช่น สำนักงานสาธารณสุข โรงพยาบาลประจำตำบล นิสิต นักศึกษา และบุคลที่สนใจ

13. วิธีการดำเนินงาน

งานวิจัยเชิงทดลองทางวิทยาศาสตร์โดยมีขั้นตอนที่สำคัญสรุปได้ดังนี้

13.1 นำสาร Dimethyl glyoxime มารีดิวซ์เกลือของทองแดง (Cu) และ เหล็ก (Fe) โดยมีลิแกนด์ช่วยเป็น Phenanthroline hydrate จะได้ Dimethyl glyoxime metal-nanoparticles อย่างน้อย 2 ตัว

13.2 นำสารใหม่ในข้อ 13.1 ทั้ง 2 ชุด ไปศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ (physico-chemical properties) เช่น จุดหลอมเหลว หมู่ฟังก์ชัน (FTIR) การดูดกลืนแสง (UV-Vis) การนำไฟฟ้าและอื่นๆ เป็นต้น

13.4 ทดสอบความสามารถในการต้านเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Salmonella*, และ *Staphylococcus aureus* ด้วยเทคนิค In vitro (Paper disc diffusion method) ในห้องปฏิบัติการ

14. ระยะเวลาทำการวิจัยและแผนการดำเนินงานตลอดโครงการวิจัย

14.1 ระยะเวลาและสถานที่ทำการวิจัย

14.1.1 ระยะเวลาดำเนินการ: 8 เดือน

14.1.2 สถานที่ดำเนินการวิจัย

ศูนย์วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

14.2 แผนการดำเนินงาน

แสดงกิจกรรม ช่วงเวลา และผู้รับผิดชอบโครงการ ดังรายละเอียดในตาราง

กิจกรรม	ช่วงเวลา (เดือน)								ผู้รับผิดชอบ
	1	2	3	4	5	6	7	8	
1. ศึกษางานวิจัยที่เกี่ยงข้อง	↔								ดร.สมหมาย และคณะ
2. จัดซื้อสารเคมีและอุปกรณ์การทดลอง		↔							ผศ.ดร.กิ่งแก้ว
3. นำสารDimethyl glyoxime มาคอนจูเกตกับทองแดง (Cu), เหล็ก (Fe) และมีลิแกนด์ช่วย Phenanthroline hydrate จะได้สารในระดับนาโน			↔						ดร.สมหมาย และคณะ
4. ศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ (physico-chemical properties) เช่น หาจุด				↔	↔				ดร.สมหมาย และคณะ

หลอมเหลว หมู่ฟังก์ชัน (FTIR) การดูดกลืนแสง (UV-Vis) การนำไฟฟ้าและสมบัติทาง Morphology									
5. รายงานความก้าวหน้า				↔					ดร.สมหมาย ผศ.กิ่งแก้วและ สุรีพร
6. ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ (biological properties) ของสารทั้งหมดในการต้านเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli, Bacillus cereus, Salmonella,* และ *Staphylococcus aureus*				↔	↔	↔			ดร.สมหมาย และคณะ
7. ทดสอบความเป็นพิษ (Cytotoxicity) ต่อเซลล์ปกติ (normal Vero cell line)						↔	↔		ดร.สมหมาย ดร.กิ่งแก้ว และ สุรีพร
8. วิเคราะห์ข้อมูล เขียนรายงานผลการวิจัย และเตรียมเอกสารตีพิมพ์						↔	↔		ดร.สมหมาย คณะวิจัย

14.3 แผนปฏิบัติงานโครงการ

กิจกรรม	วิธีการ	จำนวน (ครั้ง/กลุ่มเป้าหมาย)	ระยะเวลา	ผลที่จะได้รับ/ตัวชี้วัด	ค่าใช้จ่าย (บาท)	ผู้รับผิดชอบ
1. ศึกษาเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	ศึกษาค้นคว้าจากเอกสารฐานข้อมูล	2	1 เดือน	ได้เอกสารข้อมูลที่เกี่ยวข้อง	3,500	ดร.สมหมาย และคณะ
2. จัดซื้อสารเคมีและอุปกรณ์การทดลอง	สำรวจ สอบราคา จัดซื้อสาร	2	1 เดือน	ได้สารเคมีและอุปกรณ์	19,000	ผศ.ดร.กิ่งแก้ว

3. นำสาร Dimethyl glyoxime มาคอนจูเกตกับทองแดง (Cu), เหล็ก (Fe) และมีลิแกนด์ช่วยเป็น Phenanthroline hydrate จะได้อนุภาคนาโน	นำสาร Dimethyl glyoxime มาเพิ่มฤทธิ์ด้วยการสังเคราะห์รวมกับโลหะ	15	1 เดือน	ได้ยาในระดับอนุภาคนาโนเทคโนโลยี	5,000	ดร.สมหมาย และคณะ
4. ศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ (physico-chemical properties) เช่น หาจุดหลอมเหลว หมู่ฟังก์ชัน (FTIR) การดูดกลืนแสง (UV-Vis) การนำไฟฟ้า และ สมบัติทาง Morphology 5. รายงานความก้าวหน้า	รายงานความก้าวหน้า หาจุดหลอมเหลว หาหมู่ฟังก์ชั่น (FTIR) การดูดกลืนแสง (UV-Vis) การนำไฟฟ้าและอื่นๆ	1 20	1 ครั้ง 1 เดือน	ได้ทราบความก้าวหน้าของงานวิจัย ได้ทราบสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์	1,500 15,000	ดร.สมหมาย และคณะ ดร.สมหมาย และคณะ
6. ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ (biological properties) ของสารทั้งหมดในการต้านเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Salmonella*, และ *Staphylococcus aureus*	ทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยเทคนิค In vitro ภายในห้องทดลอง	60	1 เดือน	ได้ทราบฤทธิ์ทางชีวภาพของสาร Dimethyl glyoxime metal nanoparticles	4,000	ดร.สมหมาย ผศ.กิ่งแก้วและสุรีพร
7. ทดสอบความเป็นพิษ (Cytotoxicity) ต่อเซลล์ปกติ (normal Vero cell	ทดสอบความเป็นพิษที่ห้องปฏิบัติการของศูนย์	30	1 เดือน	ได้ทราบความเป็นพิษของสารต่อเซลล์ปกติ	10,000	ดร.สมหมาย และคณะวิจัย

line) 8. วิเคราะห์ข้อมูล เขียนรายงานผลการวิจัย และเตรียมเอกสารตีพิมพ์	นาโนเทคโนโลยี ทำรายงานฉบับสมบูรณ์ เตรียม Manuscript preparation หรือเตรียมจดสิทธิบัติ	1	1 ครั้ง	- ได้รายงาน 1 ฉบับ - ได้บทความ 1 ชิ้น - ได้สิทธิบัตร	5,000	ดร.สมหมาย ผศ.ดร.กิ่งแก้ว และสุรีพร

15. ปัจจัยที่เอื้อต่อการวิจัย

15.1 ความพร้อมด้านเครื่องมือ/อุปกรณ์

- ตู้ถ่ายเชื้อ
- ตู้บ่มเชื้อ
- หม้อนึ่งความดัน
- ตู้เครื่องกวนสาร
- Fourier Transform Infared spectroscopy (FTIR)

15.2 สิ่งที่ต้องการเพิ่มเติม

- สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย และการทดสอบสมบัติต่างๆ

16. งบประมาณที่ใช้ดำเนินการ

งบประมาณที่ใช้ในโครงการนี้**จำนวน 70,000 บาท** (เจ็ดหมื่นบาทถ้วน) แสดงรายละเอียดของค่าใช้จ่ายที่สอดคล้องกับแผนปฏิบัติการ (ในลักษณะ Unit Cost – รายการ จำนวน และค่าใช้จ่ายต่อหน่วย) โดยแบ่งเป็นหมวดดังนี้

16.1 หมวดค่าตอบแทน = 40,000 บาท

16.1.1 ค่าตอบแทนหัวหน้าโครงการและผู้ร่วมโครงการ : จำนวน 5 ท่าน เป็นเงิน = 7,000 บาท (10 % ของงบประมาณทั้งโครงการ)

16.1.2 ค่าปฏิบัติการนอกเวลาของคณะผู้วิจัย = 8,000 บาท

16.1.3 ค่าวิเคราะห์สารที่เตรียมได้ด้วยเครื่อง FTIR, UV-Vis spectroscopy, EA = 10,000 บาท

16.1.4 ค่าวัดสมบัติทาง Morphology และ AFM = 5,000 บาท

16.1.5 ค่าวิเคราะห์ ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ (Vero Cell) = 10,000 บาท

16.2 ค่าใช้สอย = 11,000 บาท

16.2.1 ค่าถ่ายเอกสารทั่วไป จำนวน...3,000...หน้า x ..0.50.. บาท = 3,500 บาท

16.2.2 ค่ากระดาษ = 1,600 บาท

16.2.3 ค่าหมึก = 2,400 บาท

16.2.4 ค่าถ่ายเอกสารและทำรูปเล่ม (รายงานความก้าวหน้าและฉบับสมบูรณ์) = 2,500 บาท

16.2.5 ค่าจ้างพิมพ์ = 1,000 บาท

16.3 หมวดค่าวัสดุ/ สารเคมีที่ใช้ในทำการวิจัย = 19,000 บาท

หมวดค่าวัสดุ ค่าสารเคมี ดังรายละเอียดต่อไปนี้	
Dimethylglyoxime 30 g	3000
Copper (II) chloride dehydrate 50 g	3,150
Ferric chloride 6-hydrate	3,000
Ferrous chloride 1x5 g	3,500
Brain heart infusion gar	2,000
Phenanthroline hydrate	1,500
Acetonitrile	1,500
Alcohol	1,000
Petri dish 15x100 mm	350

ขอถัวเฉลี่ยจ่ายทุกรายการ

17. ผลสำเร็จและความคุ้มค่าของการวิจัยที่คาดว่าจะได้รับ

ผลของการวิจัยครั้งนี้ จะเป็นการแก้ปัญหาอันเนื่องมาจากการเกิดเชื้อแบคทีเรียในโรคมนุษย์ ที่กำลังประสบปัญหาเชื้อโรคจากแบคทีเรีย ทำให้ชีวิตความเป็นอยู่และภาพร่างกายทรุดโทรม ซึ่งกำลังเป็นปัญหาใหญ่ที่ต้องแก้ไข เพื่อทำให้ประเทศชาติพัฒนา งานวิจัยนี้จึงเป็นการออกแบบ พัฒนายาในระดับอนุภาคนาโนเทคโนโลยี ซึ่งเป็นสารที่สลายตัวได้ง่าย ไม่ส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ยังเป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียได้ดี และยังสามารถใช้เป็นข้อมูลบางส่วนให้กับหน่วยงานทางเภสัชศาสตร์ เพื่อพัฒนาประสิทธิภาพของยาให้ดียิ่งขึ้น นอกจากนี้ยังเป็นการสนับสนุนนโยบายของรัฐบาลที่มุ่งให้ประชาชนทุกคนมีสุขภาพร่างกายที่แข็งแรง เพื่อเป็นกำลังพัฒนาประเทศชาติไปสู่ระดับสากล

18. คำชี้แจงอื่น ๆ (ถ้ามี)

- ไม่มี

19. ลงลายมือชื่อ หัวหน้าโครงการวิจัย พร้อมวัน เดือน ปี

(ดร.สมหมาย ปะติตังโข)
หัวหน้าโครงการ
25 พฤศจิกายน 2554

ส่วน ค : ประวัติคณะผู้วิจัย

1. หัวหน้าโครงการ: นายสมหมาย ปะติตังโข

Mr. Sommai Patitungkho

คุณวุฒิ : Ph.D. Inorganic Drug Design

เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน: 3 4409 00909 55 3

ตำแหน่งปัจจุบัน: อาจารย์

ถานที่ทำงาน: ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ อ.เมือง จ.บุรีรัมย์ 31000

โทรศัพท์: 044 611221 ต่อ 130 มือถือ 0845 887 881 โทรสาร 044 612 858

corresponding author (ผู้วิจัยสำหรับการติดต่อ) E-mail: psommai63@yahoo.com,

Dr.Sommai@gmail.com

ประวัติการศึกษา

Doctor of philosophy in Chemistry, Drug Design and Molecular Medicine,
University of Pune, India, 2006, ICCR scholarship (2006)

หัวข้อวิทยานิพนธ์: Study of Biologically Active Metal Conjugates of Quinolone and Retinoid Analogs

ปริญญาโท (วท.ม.) เคมีวิเคราะห์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 2541 (1998)

หัวข้อวิทยานิพนธ์: Isolation Purification and Application of Siderophore for Iron Determination

ปริญญาตรี (กศ.บ.) เคมี มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ มหาสารคาม 2530 (1987)

Cert. in Training for the trainer in nanotechnology, NSTDA

Cert. in Writing Skills from Institute of Advanced Studied in English

Cert. in English Communication from Institute of Advanced Studied in English

Cert. in English Language Intensive Course for International Students

Cert. in Hypercourse on Bioinformatics from Technology Management Center, National Science and Technology Development Agency, NSTDA

Cert. in Risks and Dangers of Chemical Products from Technology Management Center, National Science and Technology Development Agency, NSTDA

สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

การออกแบบและสังเคราะห์ยา เครื่องสำอาง อาหาร นาโนเทคโนโลยี
เทคโนโลยีชีวภาพ สิ่งแวดล้อมและจุลินทรีย์

ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

1. หัวหน้าโครงการวิจัย: Isolation Purification and Application of Some Compounds from Bacteria

แหล่งทุน: มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

งานวิจัยลุล่วง: 100 %

2. หัวหน้าโครงการ: การสกัด และการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสมุนไพร

แหล่งทุน: มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

งานวิจัยลุล่วง: 100 %

3. หัวหน้าโครงการ: Synthesis Physicochemical Characterization and Biological Evaluation of Levofloxacin Copper Complexation

แหล่งทุน: มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

งานวิจัยลุล่วง: 100 %

4. ผู้ร่วมวิจัย: nformation uses and information needs of Tourists in the Provinces in Lower Northeastern Region

แหล่งทุน: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว)

งานวิจัยลุล่วง: 100 %

5. หัวหน้าโครงการ: Biological Evaluation of Siderophore Against Fungi Disease in Onion Leaves

แหล่งทุน: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว)

งานวิจัยลุล่วง: 100 %

6. หัวหน้าโครงการ: Physicochemical Characterizationand Biological Evaluation of Mixed ligand Metal Quinolone Complexes

แหล่งทุน: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว)

งานวิจัยลุล่วง: 100 %

7. หัวหน้าโครงการ: Technological transformation of organic fertilizer with siderophore as anti-fungal diseases in onion and garlic to community

แหล่งทุน: สกอ.

งานวิจัยลุล่วง: 100 %

8. หัวหน้าโครงการ: Project of Vocational Promoting for Raising Chickens with Herbs to Reduce a Capital in Buriram Province

แหล่งทุน: งบไทยเข้มแข็ง

ประสบการณ์และการยอมรับในวงวิชาการ

1. วิทยากรนาโนเทคโนโลยีของศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ สวทช.
2. หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์
3. ประธานชมรมโลหิตวิทยาของสัตว์ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
4. กรรมการกำหนดยุทธศาสตร์การวิจัย วช ยุทธศาสตร์ที่ 7 การป้องกันโรคและการรักษาสุขภาพ
5. ที่ปรึกษาโครงการ IRPUS สกว
6. นักบริหารโครงการวิจัยระดับหัวหน้าโครงการ วช รุ่นที่ 9
7. ผู้ทรงคุณวุฒิทางเคมีเภสัชของประเทศไทย

8. Teacher awards 2008 ของสมาคมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยในพระบรมราชูปถัมภ์

9. สมาชิกและนักวิจัย โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชระดับโมเลกุล อันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพฯ

10. นักวิจัย สวก (สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร)

ตำราและงานสร้างสรรค์

1. เคมีอินทรีย์พื้นฐาน
2. เคมีทั่วไป

บทความวิจัย

1. Sommai Patitungkho, Shreelekha Adsule, Prasad Dandawate Subhash Padhye, Aamir Ahmad and Fazlul H. Sarkar. Synthesis, Characterization and anti-tumor activity of Moxifloxacin-Copper complexes against breast cancer cell lines, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 21, (2011) 1803-1806. Impact factor 2.65.

2. Sommai Patitungkho. Physicochemical Characterization and Biological Activities of Synthetic Levofloxacin Copper Complexes วารสาร วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มมส ปีที่ 29 ฉบับที่ 1 มกราคม-มีนาคม 2553, 1-8.

3. Sommai Patitungkho and Somsak Jeewattana. Biological Evaluation of Crude Extracts of *Kanchanaburi gratum* (Wight) S.W. Mitra, KKU Science Journal. Vol. 38 No. 4 (Oct. – Dec. 2010), 520-531.

4. Sommai Patitungkho. Antioxidant Capacity and Antibacterial Activity of *Pseuderatherum platiferum* Extract. วารสาร มฉก. วิชาการ ปีที่ 14 ฉบับที่ 27 กรกฎาคม-ธันวาคม 2553, 123-136.

5. Sommai Patitungkho and Somsak Jeewattana. A Study of Appropriate Guidelines to Develop Researchers of Faculty of Science, Buriram Rajabhat University วารสารสถาบันวิจัยและพัฒนามหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ ปีที่ 4 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม-ธันวาคม2552, 73-80.

6. Rattapong Nakachai, Suthasinee Thongiam, Suthiladda Nachai, Sunisa Suriyaphan, Toempong Phetchakul, and Sommai Patitungkho. Study on creating of solar cells by dye-sensitizer from Thai plant, The proceeding of 49th Kasetsart University annual conference, No. 6: Architecture and engineering, 1-4 February 2011, 427-433.

7. Rattapong Nakachai, Teerawat Watchrarattanapol, Suwanna Seapan, Hiranyakorn Sirimontarak, Ajjiporn Dathbun, Toempong Phetchakul and Sommai Patitungkho. Study on creating of dye-sensitizer solar cells, The proceeding of 49th Kasetsart University annual conference, No. 6: Architecture and engineering, 1-4 February 2011, 434-439

2. ผู้ร่วมโครงการ: ผศ. ดร. กิ่งแก้ว ปะติตังโข

Dr. Kingkaew Patitungkho

1. วุฒิการศึกษา

Ph.D. in Library and Information Science, University of Pune, India พ.ศ. 2549

กศ.ม. (บรรณารักษศาสตร์) มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒมหาสารคาม พ.ศ. 2534

คบ. (บรรณารักษศาสตร์) วิทยาลัยครูพระนคร พ.ศ. 2531

2. ผลงานทางวิชาการ

ตำรา

1. กิ่งแก้ว ปะติตังโข. (2549). บริการสารสนเทศ. บุรีรัมย์: คณะมนุษยศาสตร์และสังคมศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์.

2. กิ่งแก้ว ปะติตังโข. (2549). การจัดการสิ่งพิมพ์ต่อเนื่อง. บุรีรัมย์: คณะมนุษยศาสตร์และสังคมศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์.

บทความ

1. Patitungkho, K. & Deshpande, N. J. (2005). "Information Seeking Behaviour of Faculty Members of Rajabhat Universities in Bangkok." *Webology*, 2(4), Article 20. Available at: http://www.webology.ir/2005/v2n4/a20.html

2. บทความวิจัย เรื่อง “การใช้และความต้องการสารสนเทศของนักท่องเที่ยวในกลุ่มอีสานใต้ “Information uses and information needs of Tourists in the Provinces in Lower Northeastern Region” ตีพิมพ์ในวารสารอิเล็กทรอนิคส์นานาชาติของ สกว.ฉบับที่ 2/2550 ประจำเดือน พฤกษาคม- สิงหาคม 2550 ที่ www.ttresearch.org (Online ในวารสารวิชาการ)

งานวิจัย

1. พ.ศ. 2549 โครงการวิจัย เรื่อง “การใช้และความต้องการสารสนเทศของนักท่องเที่ยวในกลุ่มอีสานใต้” ได้รับทุนสนับสนุนจาก สกว.

2. พ.ศ. 2551 โครงการวิจัย “การใช้อินเทอร์เน็ตของนักศึกษามหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์” ได้รับทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

3. พ.ศ. 2551 โครงการวิจัย “ศักยภาพของบุคลากรมหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์” ได้รับทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

4. (2552) การจัดการขยะมูลฝอยในเทศบาลตำบลอิสาณ จ.บุรีรัมย์ (สกว.เป็นหัวหน้าวิจัย)

5. (2553) การบูรณาการการท่องเที่ยวเพื่อสร้างความสัมพันธ์ระหว่างไทย–กัมพูชา:The Integrated study of Tourism for making the relationship between Thailand and Cambodia (เสนอสกว.เป็นนักวิจัยร่วม)

6. (2553)สินค้า OTOP (เสนอขอสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ เป็นนักวิจัยร่วม)

7. (2553)Technological transformation of organic fertilizer with siderophore as anti-fungal diseases in onion and garlic to community (ผู้ร่วมโครงการ)

แหล่งทุน: สกอ.

งานวิจัยลุล่วง: 100 %

8. (2554) Project of Vocational Promoting for Raising Chickens with Herbs to Reduce a Capital in Buriram Province (ผู้ร่วมโครงการ)

แหล่งทุน: งบไทยเข้มแข็ง

ชื่อโครงการวิจัย **การสังเคราะห์ ศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารประกอบของไดเมทิลไกลออกซามเมทัลนาโนพาร์ติเคิล**

ผู้วิจัย **สมหมาย ปะติตังโข**

ปีที่ทำวิจัย **2556**

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ ทำการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทางเคมีด้วยสภาวะที่ไม่รุนแรง ศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์และฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านอนุมูลอิสระและการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์ พบว่า สามารถสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองแดง (C1) เหล็ก (C2) และนิเกิล (C3) ในตัวทำละลายเอทานอลที่ร้อนได้ผลผลิตในเปอร์เซ็นต์ที่สูงถึง 78.82,81.11 และ 55.01 % ผลการศึกษาด้วยเครื่อง SEM พบว่า ลักษณะของอนุภาคทองแดงนาโนเป็นทรงกลม ส่วนเหล็กและนิเกิลนาโนมีลักษณะเป็นรูปเข็มกระจายตัวสม่ำเสมอ ส่วนฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH พบว่า อนุภาคทองแดงนาโนมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงสุด รองลงมาคือ อนุภาคเล็กและนิเกิลนาโน สำหรับการต้านอนุมูลอิสระเทคนิค FRAP พบว่า ลิแกนด์ Dimethyl glyoxime (DMG หรือ L1) ออกฤทธิ์ได้ดีที่สุด ส่วนทองแดงมีฤทธิ์ต่ำที่สุด สำหรับฤทธิ์การต้านแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์ พบว่า C1 และ C2 มีประสิทธิภาพในการต้านแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด คือ *B. cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* และ *E. coli* ได้ดีที่สุดโดยมีค่า Clear zone เฉลี่ยระหว่าง 25-30 mm ดังนั้นผลจากการวิจัยในครั้งนี้จึงมีประโยชน์ต่อวงการแพทย์และเภสัชเป็นอย่างยิ่ง

Title : **Synthesis, Physicochemical Characterization, and Biological Evaluation of Dimethyl Glyoxime Metal Nanoparticles**

Author: **Sommai Patitungkho**

Academic Year: **2013**

Abstract

The objectives of this research study were to synthesize nanoparticles by using chemical processes with mild condition and to study physicochemical properties and biological activities in terms of antioxidant properties and antibacterial activities that cause disease in humans. It was found that nanoparticles could be synthesized by using warm solvent as copper (C1), iron (C2), and nickel (C3) nanoparticles with high percent yield 78.82, 81.11, and 55.01% respectively. The result of the study derived from Scanning Electron Microscopes (SEM) showed that copper nanoparticles are in round shape while iron and nickel nanoparticles are in needle shape/monoclinic shape with regular dispersion. Regarding antioxidant properties of the nanoparticles after employing free radical scavenging DPPH technique, it was found that copper nanoparticles possessed the highest efficiency, followed by iron and nickel nanoparticles respectively. Regarding antioxidant properties of the nanoparticles after employing free radical scavenging FRAP technique, it was found that the best reduced substance changing from Fe^{3+} to Fe^{2+} was Dimethylglyoxime /ligand (DMG/L1); and copper possessed the lowest antioxidant properties. In terms of antibacterial activities that cause disease in humans, it was found that the C1 and C2 nanoparticles possessed the highest antibacterial efficiency against all of the four bacteria: *B. cereus, Staphylococcus aureus, Salmonella,* and *E. coli* with mean values of clear zone between 25-30 mm. Therefore, the present research study has contributed in establishing copper, iron, and nickel nanoparticles with DMG reducing ligand obviously warrant further investigations for establishing their therapeutic utilities.

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยเรื่องการสังเคราะห์ ศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารประกอบของไดเมทิลไกลออกซามเมทัลนาโนพาร์ติเคิล ครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณอย่างสูง

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ อาจารย์พิสมัย ประชานันท์ ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนา ขอขอบคุณนางสาวสุรีพร ดัดถุยาวัตร ผู้ช่วยนักวิจัยที่ช่วยเหลือในการทดลอง และขอขอบคุณบุคลากรของสถาบันวิจัยและพัฒนา ที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกต่อกิจกรรมในการดำเนินงานการวิจัยจนสำเร็จลุล่วงอย่างดี

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมหมาย ปะติตังโข
และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กิ่งแก้ว ปะติตังโข
2 กรกฎาคม 2556

สารบัญ

		หน้า
	บทคัดย่อภาษาไทย	**ก**
	บทคัดย่อภาษาไทย	**ข**
	กิตติกรรมประกาศ	**ค**
	สารบัญ	**ง**
	สารบัญตาราง	**ฉ**
	สารบัญภาพ	**ช**
บทที่		
1	**บทนำ**	**1**
	หลักการและเหตุผล	1
	วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
	กรอบแนวคิดหรือทฤษฎีของแผนการวิจัย	3
	ขอบเขตของการวิจัย	4
2	**เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง**	**5**
	นาโนเทคโนโลยี	5
	กระบวนการสร้างและการสังเคราะห์ของนาโนเทคโนโลยี	9
	เครื่องมือวัดทางนาโนเทคโนโลยี	9
	การใช้ประโยชน์จากนาโนเทคโนโลยี	12
	อนุมูลอิสระ (free radical) หรือ Reactive oxygen species (ROS)	14
	สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant)	15
	ผลกระทบหรือผลเสียของอนุมูลอิสระต่อสุขภาพ	16
	ดัชนีชี้วัดความสามารถรวมในการต้านออกวิเดชัน	17
	วิธีที่นิยมใช้ในการศึกษาความสามารถของการต้านอนุมูลอิสระ	26
	แบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์	28
	งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	30
3	**สารเคมี อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง**	**33**
	สารเคมี อุปกรณ์ และเครื่องมือ	33
	การสังเคราะห์ (Synthesis)	34

สารบัญ (ต่อ)

บทที่		หน้า
3		
	การเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง SEM	35
	การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่าง	35
	การทดสอบความสามารถในการต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย	37
	การศึกษาฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรีย	38
4	**ผลการทดลอง**	**40**
	ผลการสังเคราะห์สารตัวอย่าง	40
	ผลการศึกษาสมบัติทางเคมีฟิสิกส์	41
	ผลการทดสอบทางมอร์โฟโลกี	43
	ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH	44
	ผลการทดสอบความสามารถในการต้านนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP	50
	ผลการทดสอบความสามารถในการต้านแบคทีเรีย (Antibacterial activities)	53
5	**สรุป วิจารณ์ผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ**	**57**
	สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	57
	ข้อเสนอแนะ	58
บรรณานุกรม		59
ประวัตินักวิจัย		61

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 วิธีวิเคราะห์หาความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชัน 20

3.1 แสดงการเจือจางสารละลายในการทำกราฟมาตรฐาน 37

4.1 สมบัติทางกายภาพของสารที่สังเคราะห์ได้ 41

4.2 มวลโมเลกุล และ Elemental analysis ของสารที่ได้จากการสังเคราะห์ 42

4.3 ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH 45

4.4 แสดงค่า IC_{50} ของสารตัวอย่างในการต้านอนุมูลอิสระ 48

4.5 แสดงค่ามาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี FRAP 50

4.6 แสดงปริมาณของ Fe^{2+} ที่ได้จากการรีดิวซ์ Fe^{3+} โดยสารตัวอย่างใน การวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP 51

4.7 แสดงความสามารถของการออกฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย ด้วยเทคนิค *In vitro* 53

สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
2.1 การเปรียบเทียบขนาดของอนุภาค	6
2.2 ขนาดของอนุภาคนาโน	8
2.3 เปรียบเทียบผลการรักษาโรคมะเร็งแบบเดิมกับแบบใหม่	8
2.4 ลักษณะการทำงานของกล้องจุลทรรศน์	10
2.5 การจัดวางอะตอมบนโลหะนิเกิล	11
2.6 กล้อง Atomic Force Microscope	12
4.1 กระบวนการสังเคร์และโครงสร้างการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Dimethyl glyoxime metal nanoparticles	40
4.2 ลักษณะทางมอร์โฟโลกีของ C1, C2 และ C3 จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิด SEM	43
4.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง % Radical Scavenging กับความเข้มข้นของสาร L1	46
4.4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง % Radical Scavenging กับความเข้มข้นของสาร C1	46
4.5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง % Radical Scavenging กับความเข้มข้นของสาร C2	47
4.6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง % Radical Scavenging กับความเข้มข้นของสาร C3	47
4.7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง % Radical Scavenging กับความเข้มข้นของสาร Ascorbic acid	48
4.8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสารตัวอย่างกับค่า Inhibitory concentration 50% (IC_{50})	49
4.9 กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP	51
4.10 การต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรียของสารประกอบ C1	54
4.11 การต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรียของสารประกอบ C2	55
4.12 การต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรียของสารประกอบ C3	56

บทที่ 1
บทนำ

ในบทที่ 1 นี้ผู้วิจัยได้นำเสนอความเป็นมาของการทำวิจัย วัตถุประสงค์ของการวิจัย กรอบแนวคิดในการวิจัยและขอบเขตของการวิจัย

1.1 หลักการและเหตุผล

ในปัจจุบันประเทศทั่วโลกได้พัฒนาเทคโนโลยีที่ทันสมัยเพื่อเป็นเครื่องอำนวยความสะดวกของประชากรทั้งทางด้านการติดต่อสื่อสาร การคมนาคม การเกษตร การศึกษา และการรักษาทางการแพทย์ แต่ในขณะเดียวกันโรคภัยไข้เจ็บก็เกิดขึ้นมาทำร้ายคน และสัตว์อยู่เรื่อยๆ เช่น โรคมะเร็ง ในปีที่ 2549 มีผู้ป่วยด้วยโรคนี้จำนวน 2,219 ราย (Hospital-Based Cancer Registry. 2549) โรคไข้หวัดนก โรคเอดส์ โรคซาร์ นอกจากนี้ยังมีโรคร้ายอีกมากมายที่มีสาเหตุมาจากอนุมูลอิสระ (Free radicals) เช่นโรคที่เกี่ยวข้องกับการเสื่อม ความบกพร่องของเซลล์ประสาท ระบบสื่อประสาทในสมอง และสภาวะขาดเลือดของอวัยวะที่สำคัญต่อการดำรงชีวิต เช่น หัวใจและสมอง ที่สำคัญคืออนุมูลอิสระทำลายสารชีวะโมเลกุลที่สำคัญในร่างกายและมีความไวต่อการออกซิไดซ์ ทำให้สมบัติและการทำงานเปลี่ยนไป เกิดการบกพร่อง หรือถูกทำลาย อันเป็นต้นเหตุของการเกิดโรคชนิดต่างๆ (โอภา วัชระคุปต์. 2549) ในขณะเดียวกันพวกแบคทีเรียก็ได้สร้างความเดือดร้อนทำให้เกิดโรคอีกมากมาย เช่น โรคอุจจาระร่วง (Diarrheal diseases) โรคติดเชื้อของระบบทางเดินปัสสาวะ ไส้ติ่งอักเสบ เยื่อบุช่องท้องอักเสบ แผลติดเชื้อโลหิตติดเชื้อ เกิดจากแบคทีเรียกลุ่ม *E. Coli* ทำให้สร้างความเสียหายอย่างมากทั้งด้านสังคม ด้านเศรษฐกิจและด้านสุขภาพอนามัย เป็นสาเหตุจูงใจให้นักวิทยาศาสตร์ทุกด้านพยายามศึกษาค้นคว้าหาความรู้หรือแก้ปัญหานี้อย่างจริงจัง เช่นในปี 2550 ได้มีการค้นพบสารสกัดที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH จากเปลือกต้นวงศ์อบเชยมีค่า EC_{50} สูงกว่า BHT ซึ่งเป็นสารต้านแอนติออกซิแดนต์ที่ยอมรับกันและเป็นสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน

ความรู้ทางด้านวิทยาศาสตร์และนาโนเทคโนโลยี ซึ่งเกี่ยวข้องกับกระบวนการจัดการการสร้าง การสังเคราะห์วัสดุ อุปกรณ์เครื่องจักรหรือสิ่งต่างๆ ที่มีขนาดเล็กมากประมาณ 1 ถึง 100 นาโนเมตร ซึ่งความรู้ทางด้านนาโนเทคโนโลยี สามารถนำมาใช้จัดเรียงอะตอมหรือโมเลกุลเข้าด้วยกันอย่างถูกต้องแม่นยำ ส่งผลให้โครงสร้างของวัสดุหรือสารต่างๆ มีสมบัติที่พิเศษขึ้นทั้งทางด้านกายภาพ เคมี และชีวภาพ ที่เป็นประโยชน์ต่อผู้ใช้สอยและเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจได้ นาโนเทคโนโลยีเป็นเทคโนโลยีที่เป็นความหวังใหม่ของมวลมนุษยชาติ เพราะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ อย่างมากมายและหลากหลายมากขึ้น การนำนาโนเทคโนโลยีไปใช้ประโยชน์เป็น

การบูรณาการศาสตร์หลากหลายแขนงเข้าด้วยกัน เช่น อิเล็กทรอนิกส์ วัสดุศาสตร์ และเทคโนโลยีชีวภาพ ซึ่งกำลังพัฒนาอยู่อย่างต่อเนื่องและนับวันจะเข้ามีบทบาทในชีวิตประจำวันมากขึ้นไม่ว่าผลิตภัณฑ์ที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการขจัดโรคภัยไข้เจ็บ ผลิตภัณฑ์ในการชะลอความแก่ เครื่องสำอาง คอมพิวเตอร์ นาโนไบโอเซ็นเซอร์ เส้นใยนาโน อนุภาคนาโน นาโนเทคโนโลยีเกี่ยวกับพลังงาน นาโนเทคโนโลยีเกี่ยวกับสิ่งแวดล้อม และนาโนเทคโนโลยีเกี่ยวกับการเกษตรและอาหาร เป็นต้น

จากเหตุผลและความจำเป็นดังกล่าวข้างต้น ทำให้คณะผู้วิจัยสนใจที่จะนำสาร Dimethyl glyoxime (DMG) มารีดิวซ์เกลือของโลหะทองแดงและเหล็ก เป็นการผสมผสานองค์ความรู้ทางด้านนาโนศาสตร์และนาโนเทคโนโลยี ซึ่งจะได้ผลิตภัณฑ์ที่อยู่ในระดับนาโน แล้วนำไปทดสอบสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ (physic-chemical properties) และฤทธิ์ทางชีวภาพ (biological properties) ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Salmonella*, และ *Staphylococcus aureus* โดยเทคนิค In vitro และนอกจากนี้ยังจะได้ทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค DPPH และ เทคนิค FARP (Ferric reducing antioxidant power assay) ผลที่ได้จากการวิจัยในครั้งนี้จะได้แนวทางในการพัฒนาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในระดับนาโนมีประสิทธิภาพสูงที่จะนำไปเป็นยาในการรักษาโรคในมนุษย์ สัตว์และพืชเศรษฐกิจ ตลอดจนเครื่องสำอางและวัสดุอุปกรณ์ที่ปลอดเชื้อต่างๆ ต่อไป

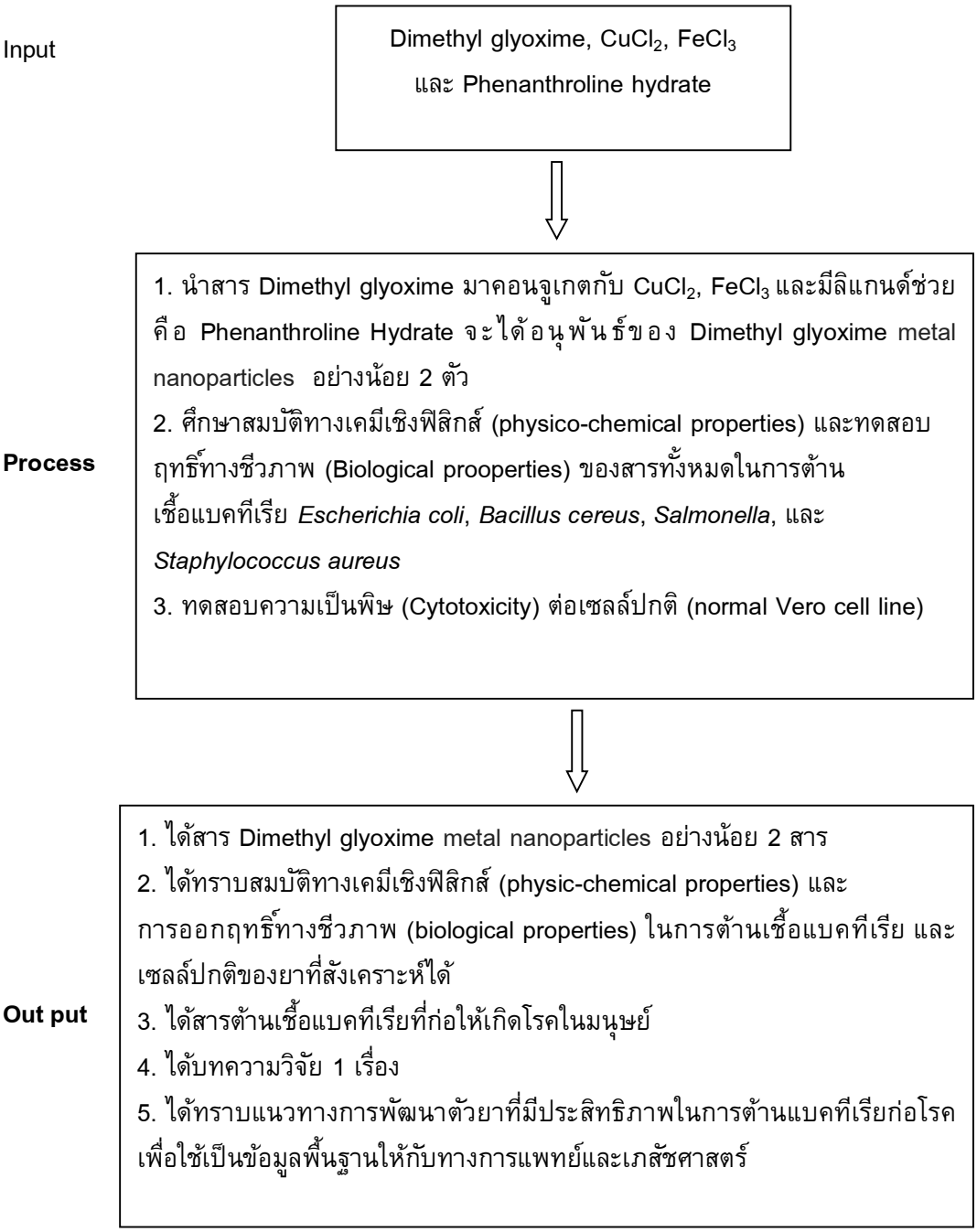
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาการออกทธิ์ทางชีวภาพ (Biological prooperties) ในการต้านเชื้อแบคทีเรียโดยอาศัยองค์ความรู้ทางวิทยาศาสตร์ และนาโนเทคโนโลยี

1.2.2 เพื่อศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ (physico-chemical properties) และศึกษาสมบัติการออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค In vitro DPPH และเทคนิค FARP

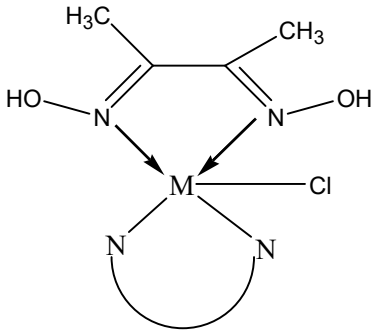
1.2.3 เพื่อศึกษาความเป็นพิษ (Cytotoxicity) ต่อเซลล์ปกติ (Normal Vero cell line) ของอนุภาคนาโนที่สังเคราะห์ได้

1.3 กรอบแนวคิดหรือทฤษฎีของแผนการวิจัย



1.4 ขอบเขต /แผนงานวิจัย

1.4.1 นำสาร Dimethyl glyoxime มารีดิวซ์ $CuCl_2$ และ $FeCl_3$ โดยมีลิแกนด์ช่วยคือ Phenanthroline Hydrate จะได้อนุพันธ์ของ Dimethyl glyoxime metal nanoparticles อย่างน้อย 2 ตัว



Dimethyl glyoxime metal nanoparticles

1.4.2 นำสารที่ได้จากข้อ 1.4.1 มาศึกษาสมบัติเคมีเชิงฟิสิกส์ อาทิ การละลาย ธาตุองค์ประกอบ (Elemental analysis, EA), FTIR, UV-Vis spectroscopy, Melting point เป็นต้น ของ Dimethyl glyoxime metal nanoparticles

1.4.3 นำสารที่ได้จากข้อ 1.4.1 มาศึกษาสมบัติทางมอร์โฟลีกีของอนุภาคที่สังเคราะห์ได้ด้วยเครื่อง Atomic Force Microscope (AFM) และหรือ (SEM)

1.4.4 นำสารที่ได้จากข้อ 1.4.1 มาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคของมนุษย์ ได้แก่ *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Salmonella*, และ *Staphylococcus aureus* ด้วยเทคนิค In vitro และทดสอบการออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค DPPH และ เทคนิค FRAP (Ferric reducing antioxidant power assay)

1.4.5 นำสารที่ได้จากข้อ 1.4.1 มาทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ (Normal Vero cell line) ของอนุภาคนาโนที่สังเคราะห์ได้

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในบทนี้ได้ให้แนวคิด และทฤษฎีจากเอกสาร ดังต่อไปนี้

1. นาโนเทคโนโลยี
2. กระบวนการสังเคราะห์ของนาโนเทคโนโลยี
3. การใช้ประโยชน์จากนาโนเทคโนโลยี
4. อนุมูลอิสระ (free radical)
5. สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant)
6. ผลกระทบหรือผลเสียของอนุมูลอิสระต่อสุขภาพ
7. ดัชนีชี้วัดจากความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชัน (Total Antioxidant Capacity,TAC)
8. วิธีที่นิยมในการศึกษาความสามารถการต้านอนุมูลอิสระ
9. แบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์
10. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

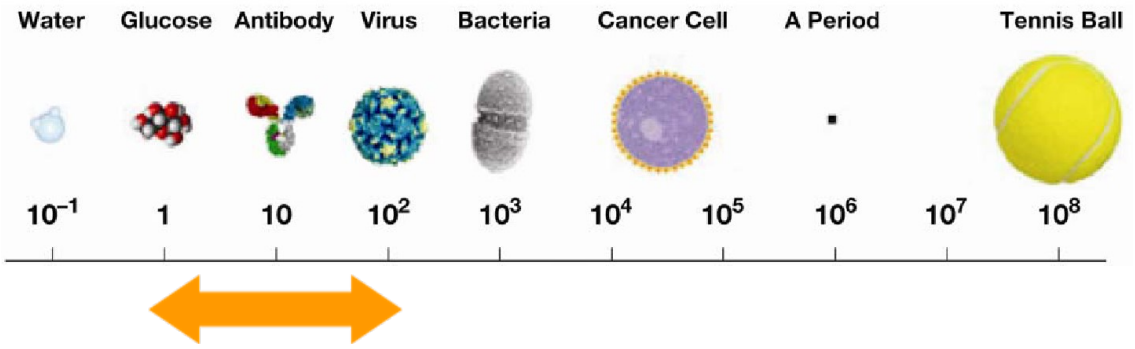
2.1 นาโนเทคโนโลยี

ความเข้าใจในพื้นฐานของชีวิตเป็นกลไกสำคัญที่ก่อให้เกิดองค์ความรู้แบบบูรณาการของเคมี ชีวเคมี ชีววิทยา คอมพิวเตอร์ จนก่อให้เกิดเป็นศาสตร์ที่เรียกว่า เทคโนโลยีชีวภาพ ก่อให้เกิดการประยุกต์ใช้ความรู้เกี่ยวกับการดัดแปลงพันธุกรรม แต่อย่างไรก็ตาม เทคโนโลยีชีวภาพก็ยังมีข้อจำกัดอยู่หลายประการ เช่น การส่งถ่ายยีนแบบสุ่มที่ไม่สามารถกำหนดได้อย่างแม่นยำว่ายีนที่ส่งถ่ายเข้าไปได้เข้าไปในส่วนของ DNA ที่ต้องการหรือไม่ นอกจากนั้นเทคโนโลยีชีวภาพยังไม่สามารถก่อให้เกิดการประดิษฐ์จักรกลโมเลกุลชนิดใหม่ที่คล้ายคลึงกับกลไกในร่างกายได้ ทั้งนี้เนื่องจากข้อจำกัดที่ว่ากลไกต่างๆ ของ DNA , RNA ไรโบโซม กรดแอมิโนและโปรตีนล้วนเกิดขึ้นในสารละลายที่มีอุณหภูมิหนึ่งเท่านั้นและจะถูกทำลายลงที่อุณหภูมิสูงกว่า 40 ^{0}C ดังนั้นจึงมีอีกหลายสิ่งที่องค์ประกอบเหล่านั้นไม่สามารถสร้างขึ้นได้ แต่ด้วยเทคโนโลยีที่ก้าวหน้าในศตวรรษที่ 21 ในอนาคตเราสามารถสร้างจักรกลชีวภาพที่สามารถเพิ่มจำนวนตัวเอง ซ่อมแซมตัวเอง เทคโนโลยีดังกล่าวจะเกิดขึ้นเมื่อใดและจะปฏิวัติวิถี

ชีวิตของเราอีกมากน้อยเพียงใด เพราะนั้นเป็นแนวทางที่จะเกิดต่อไปด้วย นาโนเทคโนโลยี (Nanotechnology)

นาโนเมตรเป็นหน่วยวัดอย่างหนึ่งซึ่งมาจากคำ 2 คำรวมกัน คือ “นาโน” กับ “เมตร” คำว่า “นาโน (Nano)” เป็นคำที่ใช้นำหน้าหน่วยวัดต่างๆ มีรากศัพท์มาจากภาษากรีกว่า “Nanos” ซึ่งแปลว่า “เล็กหรือแคระ” เมื่อนำคำว่านาโนมาใช้นำหน้าหน่วยวัดทางวิทยาศาสตร์หรือคณิตศาสตร์จะหมายถึงเศษหนึ่งส่วนพันล้านส่วนของหน่วยวัดนั้น ซึ่งเป็นขนาดที่เล็กกว่าเส้นผ่าศูนย์กลางของเส้นผมคนประมาณ 80,000 ถึง 100,000 เท่า สิ่งที่เล็กที่สุดที่มนุษย์สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าได้มีขนาด 10,000 นาโนเมตร ดังนั้นสิ่งของขนาดหนึ่งนาโนเมตรตา เราไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยเปล่า หรือแม้แต่ใช้กล้องจุลทรรศน์ธรรมดา การที่จะมองเห็นสิ่งที่เล็กขนาดนี้ต้องใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนที่มีกำลังขยายที่สูงมากหรือจะต้องเป็นกล้องที่ถูกสร้างขึ้นมาเพื่อใช้กับนาโนเทคโนโลยีโดยเฉพาะเท่านั้น

นาโนเทคโนโลยี เทคโนโลยีประยุกต์ซึ่งเกี่ยวข้องกับการจัดการ การสร้าง การสังเคราะห์วัสดุหรืออุปกรณ์ในระดับของอะตอม โมเลกุลหรือชิ้นส่วนที่มีขนาดเล็กในช่วง 1 ถึง 100 นาโนเมตร ซึ่งจะส่งผลให้วัสดุหรืออุปกรณ์ต่างๆ มีหน้าที่ใหม่ๆ และมีสมบัติที่พิเศษขึ้นทั้งทางด้านกายภาพ เคมี และชีวภาพ ทำให้มีประโยชน์ต่อผู้ใช้สอยและเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจได้



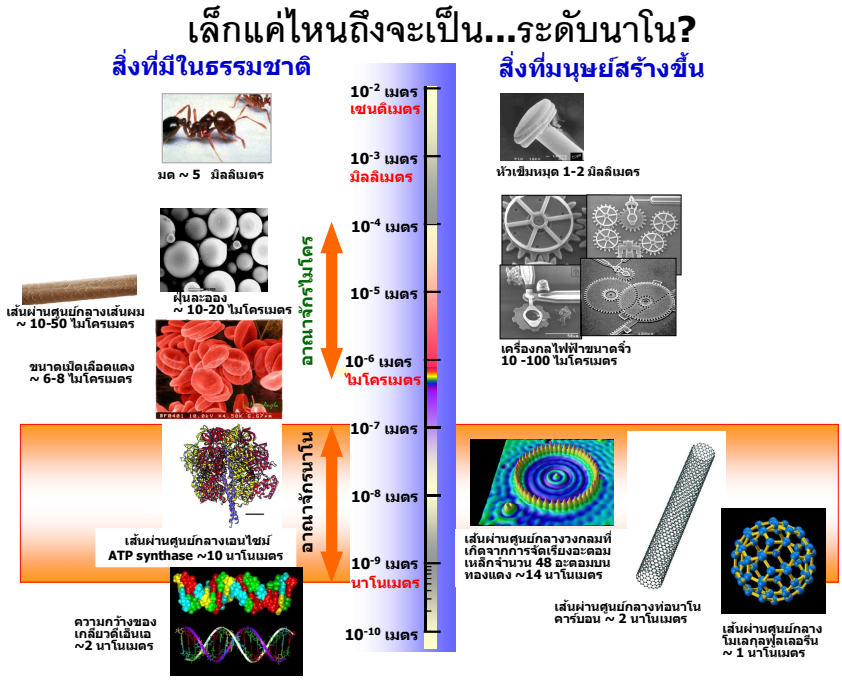
ภาพที่ 2.1 การเปรียบเทียบขนาดของอนุภาค

องค์ประกอบของนาโนเทคโนโลยี

1. ขนาดเล็กในระดับ 1 - 100 นาโนเมตร
2. มีหน้าที่ใหม่ๆ เกิดขึ้นหรือมีสมบัติที่พิเศษขึ้น
3. ถูกต้อง แม่นยำ และควบคุมได้

สิ่งที่จะเรียกได้ว่าเป็นนาโนเทคโนโลยีจะต้องมีคุณสมบัติครบทั้ง 3 ประการ คือ ขนาดจะต้องอยู่ในช่วง 1 - 100 นาโนเมตร มีหน้าที่ใหม่ๆ เกิดขึ้นหรือมีสมบัติพิเศษที่แตกต่างๆ ไปจากเดิม เนื่องจากวัสดุที่มีขนาดเล็กในระดับนาโนเมตรจะมีสมบัติต่างๆ เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม เช่น สมบัติทางแม่เหล็ก สมบัติทางไฟฟ้า สมบัติทางกายภาพ สมบัติทางแสงและสมบัติทางเคมี ดังตัวอย่างของทองคำ เมื่อมีขนาดในระดับนาโนจะมีสีแดง มีความว่องไวต่อปฏิกิริยาเคมี หรือเงินเมื่อมีขนาดในระดับนาโนจะมีสีเหลือง สีม่วง สีเทา มีสมบัติทางชีวภาพ เช่น ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดได้

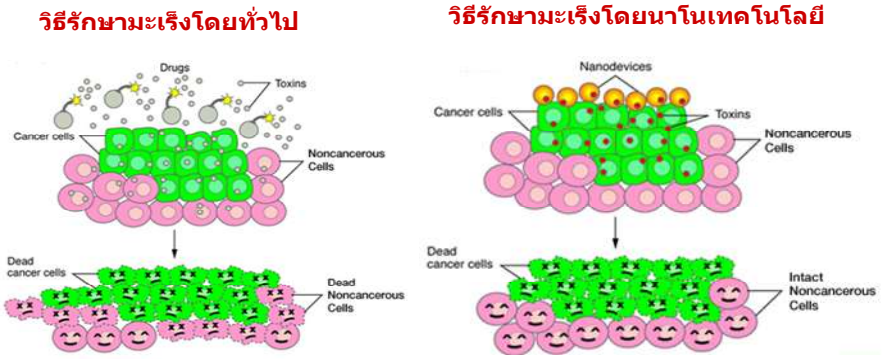
สมบัติของวัสดุขนาดนาโนที่พิเศษนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้มากมาย เช่น แคปซูลยา ขนาดนาโนสามารถนำยาไปยังเป้าหมายที่ต้องการในส่วนต่างๆ ของร่างกายได้อย่างแม่นยำทำให้ผลการรักษาโรคมีประสิทธิภาพสูงขึ้นและลดผลข้างเคียง จึงทำให้มีการค้นคว้าและพัฒนาเทคโนโลยีเกี่ยวกับวัสดุขนาดนาโนอย่างกว้างขวางและกำลังก้าวหน้าอย่างรวดเร็วจนมีการผลิตและใช้ในเชิงพาณิชย์เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เทคโนโลยีที่เกี่ยวข้องกับสิ่งของขนาดนาโนเรียกว่า นาโนเทคโนโลยี



ภาพที่ 2.2 ขนาดของอนุภาคนาโน

ที่มา : ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ (2551)

นาโนเทคโนโลยีกับการรักษาโรคมะเร็ง



ภาพที่ 2.3 เปรียบเทียบผลการรักษาโรคมะเร็งแบบเดิมกับแบบใหม่

จากภาพจะเห็นว่าวิธีการรักษาโรคมะเร็งโดยทั่วไปที่ใช้กันอยู่มีจุดด้อย เนื่องจากยาออกฤทธิ์อย่างไม่จำเพาะทำลายทั้งเซลล์มะเร็งและในขณะเดียวกันก็ทำลายเซลล์ปกติด้วย ส่วนการรักษาด้วยนาโนเทคโนโลยีนั้นมีจุดเด่นคือยาออกฤทธิ์อย่างจำเพาะทำลายเฉพาะเซลล์มะเร็ง ส่วนเซลล์ปกติไม่เสียหาย นอกจากนี้ยังทำให้ปริมาณที่ใช้ลดลง (Low dose)

2.2 กระบวนการสร้างและการสังเคราะห์ของนาโนเทคโนโลยี

กระบวนการสร้างและการสังเคราะห์แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ 1) การสร้างหรือการสังเคราะห์อุปกรณ์นาโนโดยใช้กระบวนการแบบบนลงล่าง (Top down) 2) การสร้างหรือการสังเคราะห์โดยใช้กระบวนการล่างสูบน (Bottom up)

2.2.1 การสังเคราะห์แบบบนลงล่าง

ตัวอย่างของการสังเคราะห์หรือการสร้างอุปกรณ์นาโนในลักษณะนี้มีดังนี้

1. การสลักลวดลาย (Lithography)
2. การตกตะกอน (Deposition)
3. การกัดด้วยกรด (Etching)
4. การดัดแปลงเนื้อวัสดุ (Material modification)

2.2.2 การสังเคราะห์แบบล่างสู่บน

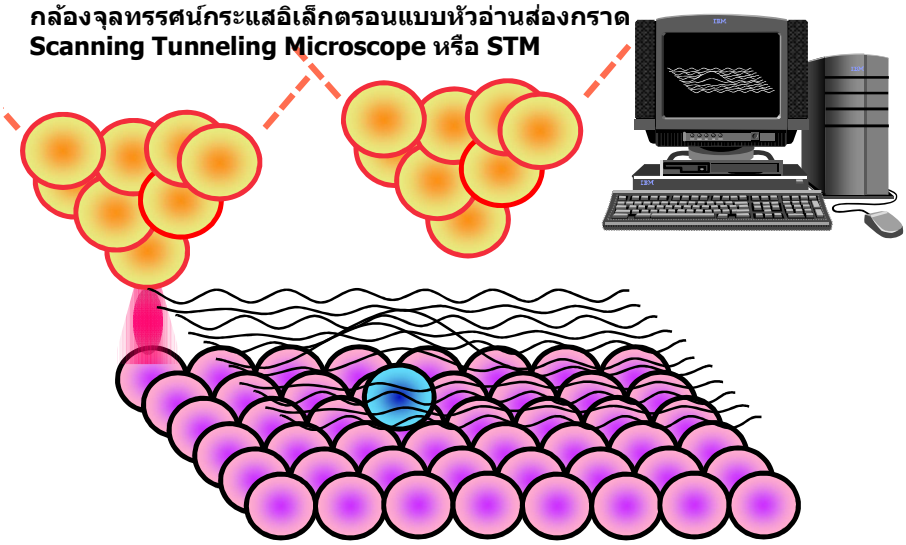
ตัวอย่างของการสังเคราะห์หรือการสร้างอุปกรณ์นาโนในลักษณะนี้มีดังนี้

1. การสังเคราะห์ทางเคมี (Chemical synthesis)
2. การประกอบตัวเอง (Self assembly)
3. การย้ายอะตอมด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Scanning probe manipulation)

2.3 เครื่องมือวัดทางนาโนเทคโนโลยี

การประดิษฐ์อุปกรณ์ที่ใช้ในการสังเคราะห์หรือศึกษาวัสดุในระดับนาโนจนประสบความสำเร็จถือเป็นความสำเร็จก้าวแรกของการศึกษานาโนเทคโนโลยี คือ การใช้กล้องจุลทรรศ์แบบหัวส่องกราดหรือกล้อง STM (Scanning Tunneling Microscope) สแกนพื้นผิวโดยวัดกระแสไฟฟ้าที่ทะลุผ่านช่องว่างหัวเข็มของกล้อง STM กับผิวหน้าของตัวอย่าง ลักษณะคล้ายกับการใช้มือลูบไปตามพื้นผิวจะทำให้ทราบลักษณะของพื้นผิว นอกจากนั้นเครื่องนี้ยังสามารถใช้จัดเรียงอะตอมให้มีรูปร่างต่างๆ ตามที่เราต้องการได้อีกด้วย

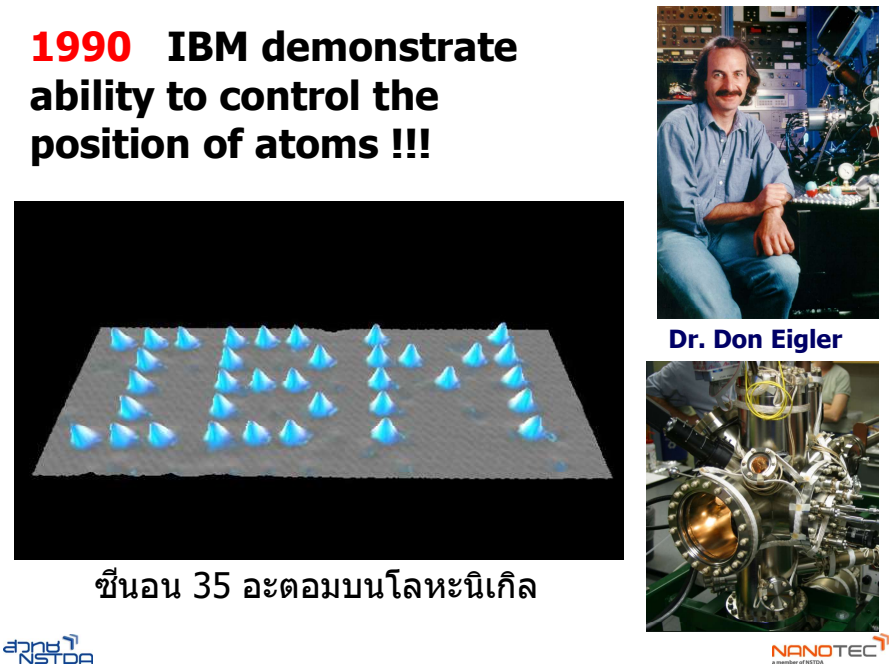
กล้อง STM สแกนพื้นผิวของตัวอย่างโดยการวัดกระแสไฟฟ้าและความต่างศักย์บังคับปลายเข็มโลหะที่แหลมให้เคลื่อนที่ไปบนผิวของตัวอย่างโดยปลายเข็มจะเคลื่อนที่ขึ้นลงตามความสูงต่ำของพื้นผิว



ภาพที่ 2.4 ลักษณะการทำงานของกล้องจุลทรรศน์

ที่มา : ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ (2551)

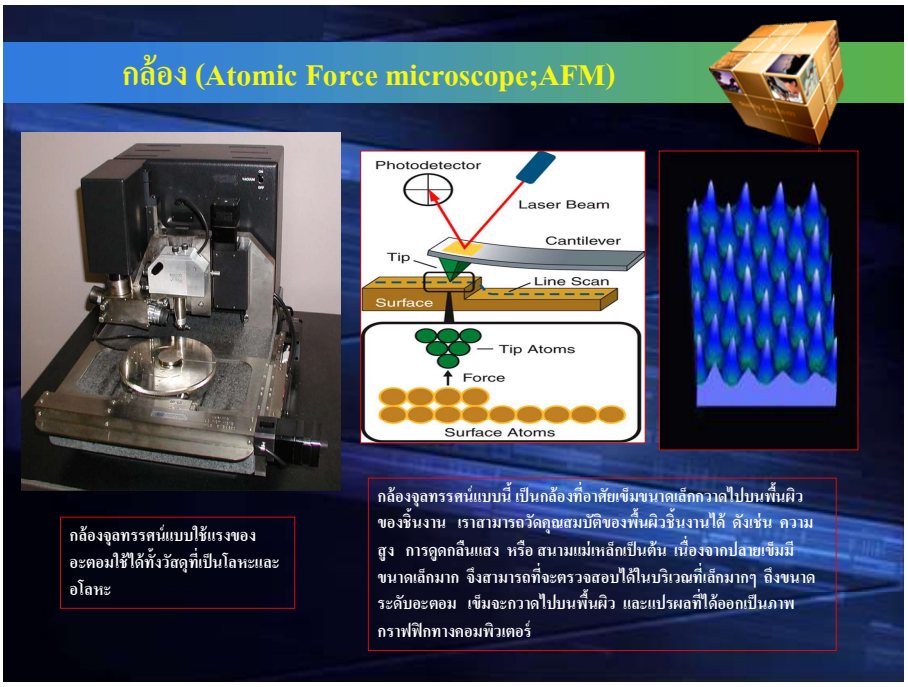
นอกจากนั้นกล้อง STM ยังสามารถใช้เคลื่อนย้ายอะตอมไปบนผิวตามต้องการ โดยอาศัยแรงดึดดูดระหว่างอิเล็กตรอนที่หัวเข็มกับอะตอมของตัวอย่าง ซึ่งดอน ไอเกอร์ (Don Eigler) แห่งบริษัทไอบีเอ็มเป็นคนแรกที่ใช้กล้อง STM เรียงอะตอมซีนอน 35 อะตอมเป็นอักษร “IBM” บนชั้นอะตอมของนิเกิลได้สำเร็จในปี พ.ศ. 1990



ภาพที่ 2.5 การจัดวางอะตอมบนโลหะนิเกิล

กล้อง AFM (Atomic Force Microscope) เป็นเครื่องมือที่สำคัญมากต่อการศึกษาทางด้านนาโนเทคโนโลยี เป็นเครื่องที่ใช้สแกนพื้นผิวของตัวอย่างเช่นเดียวกับกล้อง STM แต่มีกลไกที่แตกต่างกันคือ กล้อง AFM จะอาศัยแรงกระทำกับอะตอม (Atomic Force) ในขณะทีกล้อง STM ใช้แรงทางไฟฟ้า

กล้อง AFM ใช้ศึกษาโครงสร้างที่ซับซ้อน (Complex) ของโมเลกุล นอกจากนี้ยังใช้ในการตัด หัก งอ บิดและเคลื่อนย้ายโมเลกุลได้ตามต้องการ แต่การผลิตสารอินทรีย์ที่ละโมเลกุลยังไม่สามารถทำได้ เนื่องจากส่วนประกอบระดับนาโนในสิ่งมีชีวิตเป็นสิ่งที่นักวิทยาศาสตร์เข้าไม่ถ่องแท้



ภาพที่ 2.6 กล้อง Atomic Force Microscope
ที่มา : ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ (2551)

อุปกรณ์ทางด้านนาโนเทคโนโลยีเหล่านี้สามารถช่วยให้เราสามารถมองเห็นพื้นผิวระดับอะตอมได้เป็นครั้งแรก จึงทำให้เข้าใจโครงสร้างต่างๆ ในระดับนาโนมากยิ่งขึ้น นอกจากนี้ยังสามารถใช้ปรับแต่งโมเลกุล ใช้สร้างภาพ หรือตัวอักษรขนาดจิ๋วโดยเรียงอะตอมหรือโมเลกุลบนพื้นผิวที่มีโครงสร้างอย่างจำเพาะ

2.4 การใช้ประโยชน์จากนาโนเทคโนโลยี

นาโนเทคโนโลยีเป็นเทคโนโลยีที่เป็นความหวังใหม่ของมวลมนุษยชาติ เพราะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างมากมายและหลากหลายมากขึ้น การนำนาโนเทคโนโลยีไปใช้ประโยชน์เป็นการบูรณาการศาสตร์หลายแขนงเข้าด้วยกัน เช่น เทคโนโลยีชีวภาพ วัสดุศาสตร์ และอิเล็กทรอนิกส์ ซึ่งกำลังพัฒนาอยู่อย่างต่อเนื่องและนับวันจะเข้ามามีบทบาทในชีวิตประจำวันมากขึ้น ไม่ว่าจะเป็นผลิตภัณฑ์ที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาโรค ผลิตภัณฑ์ความงาม ชะลอความแก่ สิ่งทอ อาหาร ที่อยู่อาศัย เครื่องอำนวยความสะดวกต่างๆ พลังงาน วัสดุเครื่องใช้ที่มีน้ำหนักเบาแต่มีความแข็งและเหนียว การสร้างวัสดุที่ฉลาด (Material intelligence)

การประดิษฐ์วงจรไฟฟ้าที่มีความเร็วกว่าเดิมนับร้อยนับพันเท่าจนกลายเป็นคอมพิวเตอร์ที่สามารถคิดตัดสินใจเองได้ในที่สุด และยังทำให้เกิดความหวังอื่นๆ เพิ่มขึ้นอีกมหาศาล ในที่นี้จะให้รายละเอียดโดยสังเขปเกี่ยวกับการประยุกต์ใช้ความรู้ทางนาโนเทคโนโลยีในด้านต่างๆ (โครงการสร้างความเข้าใจวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและนวัตกรรมแก่สาธารณชน. 2549 : 66-93) ดังนี้

2.4.1 นาโนเทคโนโลยีกับการแพทย์

นาโนเทคโนโลยีกับการแพทย์ เป็นการพัฒนาวิธีวินิจฉัยโรคที่มีประสิทธิภาพสูง แม่นยำและรวดเร็วโดยใช้นาโนไบโอเซนเซอร์ การค้นหาและออกแบบโมเลกุลของยาให้มีขนาดระดับนาโนที่สามารถออกฤทธิ์อย่างจำเพาะต่อเป้าหมาย (Target) ส่วนยาที่ละลายน้ำยากสามารถบรรจุในแคปซูลระดับนาโนเพื่อส่งยาไปยังเป้าหมาย การใช้นาโนเทคโนโลยีทำให้เกิดทางเลือกใหม่ๆ ในการรักษาอย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น สรุปการนำความรู้ทางนาโนเทคโนโลยีมาใช้ทางการแพทย์เพื่อวัตถุประสงค์ดังนี้

การวิเคราะห์และวินิจฉัยโรค
การค้นพบยาชนิดใหม่
วิธีการรักษาโรคแบบใหม่
ระบบนำส่งยานำวิถี
วิศวกรรมเนื้อเยื่อ
สาธารณสุขพื้นฐาน

2.4.2 นาโนเทคโนโลยีกับอิเล็กทรอนิกส์

นาโนเทคโนโลยีกับอิเล็กทรอนิกส์ เป็นการนำนาโนเทคโนโลยีมาใช้ในการพัฒนาอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์ซึ่งกำลังทวีความสำคัญมากขึ้น เพราะนาโนเทคโนโลยีสามารถย่อขนาดของชิ้นส่วนคอมพิวเตอร์ให้เล็กลงได้มาก ทำให้คอมพิวเตอร์และอุปกรณ์มีขนาดเล็ก น้ำหนักเบา และมีสมรรถนะสูง นาโนอิเล็กทรอนิกส์หมายความครอบคลุมทั้งนาโนคอมพิวเตอร์ ระบบไฟฟ้าเครื่องกลจุลภาค (MEMS/NEMS) หน่วยความจำ โมเลกิวลาร์อิเล็กทรอนิกส์ จอภาพแบบ OLED และอุปกรณ์ประเภทออปติกขนาดนาโน (Nano optics) และอื่นๆ

2.4.3 นาโนเทคโนโลยีกับวัสดุ

นาโนเทคโนโลยีใช้ในการสังเคราะห์วัสดุขนาดซุปเปอร์จิ๋วหรือเรียกว่าวัสดุนาโน (Nanomaterials) วัสดุนาโนสังเคราะห์ได้แก่ โลหะ พอลิเมอร์ เซรามิกและคอมพอสิตที่เกิดขึ้นจากการออกแบบและสังเคราะห์โดยการจัดเรียงอะตอมหรือโมเลกุลเข้าด้วยกันอย่างแม่นยำ โดยสมบัติและพฤติกรรมต่างๆ ของวัสดุนาโน เช่น การนำไฟฟ้า สมบัติเชิงกล สมบัติทางแม่เหล็ก เป็นต้น จะแตกต่างไปจากชนิดเดียวกันที่มีขนาดใหญ่

วัสดุนาโนนำมาประยุกต์ใช้เป็นวัสดุฉลาดหลายชนิด (Smart materials) วัสดุฉลาดสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้มากมาย เช่น เลนส์แว่นตาชนิดพิเศษ เสื้อผ้าที่จดจำผู้ใช้ได้ ทำทรานซิสเตอร์ในอุปกรณ์อัลตราโซนิกทางการแพทย์ ใช้เป็นอุปกรณ์จุดก๊าซในเตาเครื่องทำความร้อน ใช้เป็นพื้นผิวหรือเสื้อผ้าที่ทำความสะอาดตัวเองได้ ใช้ทำวัสดุซ่อมแซมตัวเองได้ ซึ่งนำไปใช้ทำถุงมือที่ไม่มีวันรั่ว รถยนต์ไร้รอยขีดข่วน ยางรถยนต์ที่ประสานเนื้อยางเองเมื่อเกิดรูรั่ว วัสดุนาโนยังแบ่งย่อยเป็นอีกหลายกลุ่ม เช่น

นาโนคอมพอสิต (Nanocomposites) เป็นวัสดุที่เกิดจากการเติมอนุภาคนาโนของสารต่างๆ เข้าไปในเนื้อของวัสดุบางชนิด เพื่อปรับปรุงสมบัติของวัสดุนั้นให้ดีขึ้น เช่น ทนความร้อน ป้องกันการติดไฟ เสริมความแข็งแรง การนำไฟฟ้า และเพิ่มความยืดหยุ่น ประโยชน์ของนาโนคอมพอสิต เช่น ใช้ในการสร้างชิ้นส่วนรถยนต์และเครื่องบินที่แข็งแรงแต่น้ำหนักเบา ใช้เป็นสารเคลือบผิวป้องกันการกัดกร่อนและรอยขีดข่วน ใช้ประดิษฐ์เซ็นเซอร์แบบฟิล์มบาง ใช้เป็นฟิล์มเรืองแสง ใช้เป็นบรรจุภัณฑ์ อาหารและเครื่องดื่มที่สามารถป้องกันการซึมผ่านของแก๊สต่างๆ นอกจากนี้ยังใช้ในอุตสาหกรรมปิโตรเคมีและปูนซีเมนต์

นอกจากนี้ยังมีวัสดุนาโนอื่นๆ อีก เช่น ท่อนาโนคาร์บอน (Carbon nanotube) อนุภาคนาโน เส้นใยนาโน เป็นต้น

2.4.4 นาโนเทคโนโลยีกับเครื่องสำอาง นาโนเทคโนโลยีได้นำมาใช้พัฒนาคุณภาพและประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ของเครื่องสำอาง เช่น การผลิตเครื่องสำอางโดยการบรรจุสารต่างๆ ลงในถุงหุ้มหรือแคปซูลนาโน จะทำให้สารไม่สลายตัวเมื่อถูกแสงหรือออกซิเจน สามารถควบคุมการปลดปล่อยสารให้ออกมาทีละน้อย

2.4.5 นาโนเทคโนโลยีกับพลังงาน แหล่งพลังงานบนโลกมีต้นกำเนิดมาจากดวงอาทิตย์ น้ำมัน ถ่านหิน แก๊สธรรมชาติ แหล่งพลังงานเหล่านี้ล้วนเกิดจากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง นักวิทยาศาสตร์จึงพยายามที่จะสังเคราะห์โครงสร้างของสารเพื่อจับกับพลังงานแสงอาทิตย์แล้วแปลงเป็นกระแสไฟฟ้า

นอกจากนี้นาโนเทคโนโลยียังเกี่ยวข้องกับสิ่งแวดล้อม อาหารและการเกษตร ตลอดเกี่ยวข้องกับปัจจัยต่างๆ ในการดำรงชีวิต

2.5 อนุมูลอิสระ (free radical) หรือ Reactive oxygen species (ROS)

ROS เป็นโมเลกุลหรือไอออนที่มีอิเลคตรอนเดี่ยวอยู่รอบนอกและมีอายุสั้นมาก จัดเป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรและว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี จึงทำปฏิกิริยากับโมเลกุลต่างๆ ภายในร่างกายเพื่อให้ตัวมันเสถียร แหล่งที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระในตัวคนมี 2 แหล่ง คือ จากภายในร่างกาย เช่น การเผาผลาญอาหาร การหายใจ การออกกำลังกาย และจากแหล่งภายนอกร่างกายที่เป็นตัวกระตุ้นให้เกิดอนุมูลอิสระ ได้แก่ ความเครียด การติดเชื้อ มลพิษในอากาศ เป็นต้น อนุมูลอิสระมีหลายชนิด ชนิดที่สำคัญ ได้แก่ซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน

(superoxide anion) ไฮโรเจนเพอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) ไฮดรอกซิลแรดดิคอล (hydroxyl radical) เมื่อมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นจึงเกิดการทำลายโมเลกุลื่นๆ ต่อเนื่องกันเป็นลูกโซ่ ส่งผลให้เกิดการอักเสบของเนื้อเยื่อร่างกายเกิดริ้วรอยเหี่ยวย่นบนใบหน้า รอบดวงตาและผิวพรรณรวมทั้งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคเรื้อรังต่างๆ เช่น โรคหัวใจขาดเลือด ต้อกระจก ความดันโลหิตสูง อัลไซเมอร์ เบาหวาน มะเร็ง เป็นต้น ปกติภายในร่างกายของเรามีกลไกป้องกันการโจมตีจากอนุมูลอิสระ โดยอาศัยากรทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระที่สร้างขึ้นในร่างกาย เช่น เอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส (superoxide dismutase), คาทาเลส (catalase), กลูทาไทออน เปอร์รอกซิเดส (GPX) เป็นต้น แต่การสร้างสารต้านอนุมูลอิสระยังไม่เพียงพอและมีขีดจำกัดประกอบกับเมื่ออายุมากขึ้นร่างกายสร้างสารต้านอนุมูลอิสระได้น้อยลง ดังนั้นร่างกายจึงควรรับสารต้านอนุมูลอิสระจากภายนอก โดยการรับประทานอาหารมีอุดมด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ

2.6 สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระ คือ สารประกอบที่สามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดกระบวนการออกซิเดชั่น กระบวนการออกซิเดชั่นมีได้หลายรูปแบบ เช่น กระบวนการออกซิเดชั่นที่ทำให้เหล็กกลายเป็นสนิม ทำให้แอปเปิ้ลเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหรือทำให้น้ำมันพืชเหม็นหืน หรือกระบวนการออกซิเดชั่นที่เกิดในร่างกาย เช่น การย่อยสลายโปรตีนและไขมันจากอาหารที่กินเข้าไป มลพิษทางอากาศ การหายใจ ควันบุหรี่ รังสียูวี ล้วนทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นในร่างกายของเราซึ่งสร้างความเสียหายต่อร่างกายได้ ในความเป็นจริงไม่มีสารประกอบสารใดสารหนึ่งสามารถป้องกันการเกิดออกซิเดชั่นได้ทั้งหมด แต่ละกลไกอาจต้องใช้สารต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันในการหยุดกระบวนการออกซิเดชั่น ในอีกทางหนึ่ง กระบวนการออกซิเดชั่นเป็นกระบวนการที่สำคัญต่อร่างกาย เช่น เราใช้ออกซิเจนจากอากาศที่หายใจเข้าไปไปเผาผลาญอาหารที่ร่างกายได้รับให้เป็นพลังงานสำหรับการทำงานของเซลล์ต่างๆ แต่ก็ทำให้เกิดอนุมูลอิสระเป็นผลพลอยได้ อนุมูลอิสระต่างๆ ที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับโมเลกุลที่สำคัญในร่างกาย เช่น ไขมัน โปรตีน ดีเอ็นเอ ทำให้เกิดความเสียหายต่อโมเลกุลดังกล่าว ตัวอย่างเช่น เมื่ออนุมูลอิสระทำปฏิกิริยากับแอลดีแอล (LDL: low-density lipoprotein) ซึ่งเป็นโคเลสเตอรอลตัวเลวทำให้เกิดออกซิไดซ์แอลดีแอล (oxidized LDL) ซึ่งมีหลักฐานยืนยันว่า ออกซิไดซ์แอลดีแอลเป็นสาเหตุของการเกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็งทำให้เกิดการอุดตันของหลอดเลือดและเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคหัวใจ

การเกิดอนุมูลอิสระในสิ่งมีชีวิตเกิดจากการเผาผลาญของเซลล์โดยการใช้ออกซิเจน อนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์แอนอิออน ($O_2^{-\cdot}$) และอนุมูลไฮดรอกซี ($^{\cdot}OH$) เป็นอนุมูลที่พบในเซลล์มากกกว่า อนุมูลอิสระอื่นๆ ส่วนไฮโดรเจนเปอร์ไซด์และเปอร์ออกซีไนไตรท ($ONOO^-$)

แม้ว่าโครงสร้างไม่อยู่ในอนุมูลอิสระแต่เป็นสารที่ได้จากปฏิกิริยาต่อเนื่องที่มีอนุมูลอิสระเป็นต้นเหตุ สารที่ไม่ได้อยู่ในรูปอนุมูลเหล่านี้มีบทบาทในปฏิกิริยารีด็อกซ์ที่เกิดขึ้นในเซลล์เป็นอย่างมากและมีความเป็นพิษสูง จึงมีการบัญญัติศัพท์ขึ้นใหม่ให้ครอบคลุมทั้งอนุมูลอิสระและสารที่ว่านี้ว่าสารความไวสูง (reactive species, RS) (โอภา วัชระคุปต์. 2550)

2.7 ผลกระทบหรือผลเสียของอนุมูลอิสระต่อสุขภาพ

อาการและโรคที่อันเนื่องมาจาก ROS และ RNS โดยหลักการแล้ว ภาวะ Oxidative stress หรือภาวะที่ร่างกายถูกออกซิไดส์หรือมีอนุมูลอิสระมากเกินสมดุลเป็นผลมาจาก

2.7.1 การลดน้อยลงของสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งเกิดได้จากหลายสาเหตุ เช่น การเกิดการกลายพันธุ์ซึ่งมีผลกระทบต่อเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ควบคุมป้องกันการเกิดออกซิเดชัน กล่าวคือทำหน้าที่กำจัดหรือต้านอนุมูลอิสระ เอนไซม์ดังกล่าวนี้ ได้แก่ เอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตสชนิดต่างๆ เอนไซม์กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส และเอนไซม์คาตาเลส เป็นต้น การกลายพันธุ์ทำให้เอนไซม์เหล่านี้ไม่ทำงาน หรือทำงานบกพร่อง หรือสาเหตุจากโรคที่ทำให้เอนไซม์ที่ทำหน้าที่ป้องกันการเกิดออกซิเดชันลดลงหรือหมดไป รวมทั้งสาเหตุทางโภชนา คือ ได้รับสารต้านอนุมูลอิสระหรือสารต้านออกซิเดชันจากอาหารไม่เพียงพอ ทั้งหมดนี้ทำให้ร่างกายอยู่ในภาวะถูกออกซิไดส์เกิดอาการผิดปกติและตามมาด้วยการเกิดโรคหรือการเจ็บป่วย

2.7.2 การเกิดอนุมูลอิสระและผลิตผลที่เกี่ยวข้องเพิ่มขึ้น อนุมูลอิสระและผลิตผลที่เกี่ยวข้องจะเกิดขึ้นในภาวะต่างๆ เช่น การได้รับออกซิเจนในปริมาณที่สูง หรือการที่เซลล์ได้รับออกซิเจนใหม่ภายหลังจากภาวะขาดเลือดชั่วขณะ แม้ว่าออกซิเจนที่ได้รับจะไม่สูงก็ตาม แต่การทำงานของเอนไซม์ในเซลล์ภายหลังภาวะขาดเลือดจะบกพร่องทำงานได้น้อยลงทำให้การเผาผลาญออกซิเจนผิดปกติเกิดอนุมูลอิสระและผลิตผลที่เกี่ยวข้องขึ้น การได้รับสารเป็นพิษพวกอนุมูลอิสระ เช่น อนุมูล $NO_2^{\cdot}$ จากอาหารหรือมลพิษ หรือในภาวะที่ระบบมีการผลิตอนุมูลอิสระถูกกระตุ้น เช่น ระบบภูมิคุ้มกันถูกกระตุ้นหรือในภาวะอักเสบ

ภาวะที่ร่างกายถูกออกซิไดส์หรือมีอนุมูลอิสระมากเกินไปและไม่สมดุล ทำให้เกิดความเสียหายต่อสารชีวโมเลกุลที่สำคัญในการดำรงชีวิต ซึ่งสารชีวโมเลกุลที่เป็นเป้าหมาย คือ ดีเอ็นเอ โปรตีน และ ลิปิด การตายของเซลล์เกิดโดยกลไกที่สำคัญ 2 กลไก คือ กลไกการตายแบบ necrosis ซึ่งเป็น การตายของเนื้อเยื่อหรือเซลล์จากสารพิษหรือจากเชื้อโรคต่างๆ และ

กลไกการตายแบบ apoptosis คือตายตามอายุขัยของเซลล์นั้นๆ โดยการทำลายตัวเองของเซลล์ ซึ่งทั้งสองกลไกนี้มีส่วนเกี่ยวข้องในการเกิดภาวะที่เซลล์หรือร่างกายถูกออกซิไดส์ หรือมีอนุมูลอิสระมาก ในการตายของเซลล์แบบแรกเซลล์จะบวมหรือพองตัวและแตกออก ทำให้องค์ประกอบและสิ่งที่อยู่ภายในเซลล์กระจายออกมายังบริเวณที่ล้อมรอบภายนอก ส่งผลกระทบต่อเซลล์อื่นๆ ที่อยู่ข้างเคียง ได้แก่ เอนไซม์หรือสารที่ทำหน้าที่ต้านอนุมูลอิสระ เช่น เอนไซม์คาตาเลส กลูตาไทโอน รวมทั้งสารโปรออกซิแดนท์ (pro-oxidant) โดยสารโปรออกซิแดนซ์เป็นสารที่เร่งปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระหรือสารที่สามารถเปลี่ยนไปเป็นอนุมูลอิสระ เช่น ไอออนของคอปเปอร์ เหล็กและโปรตีนฮีม ส่วนการตายแบบ apoptosis จะไม่ปลดปล่อยสิ่งที่บรรจุอยู่ภายในเซลล์ออกมาจึงไม่ทำให้เกิดการรบกวนแก่เซลล์แวดล้อมหรือเซลล์อื่นที่อยู่ข้างเคียง การตายของเซลล์แบบ apoptosis อาจไปเร่งหรือก่อให้เกิดโรคบางโรค เช่น โรคที่เกี่ยวกับ การเสื่อมของระบบประสาท โรคบางโรคสามารถเกิดขึ้นจากภาวะ oxidative stress โดยตรง เช่น การฉายรังสีหรือการได้รับรังสีทำให้เกิดการแตกตัวเป็นไอออน โดยเฉพาะโมเลกุลของน้ำจะแตกตัวทำให้มีอนุมูล $^{\cdot}OH$ ไปทำลายโปรตีน ดีเอ็นเอ และลิปิดหรือไขมัน โดยการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งโรคส่วนใหญ่อยู่ในภาวะถูกออกซิไดส์หรือมีอนุมูลอิสระมากเกินสมดุลไม่ได้เป็นสาเหตุหลักของการเกิดโรคแต่จะเป็นผลที่เกิดขึ้นตามมาภายหลังและทำให้โรคมีพัฒนาการกำเริบอย่างรวดเร็ว การที่เนื้อเยื่อเสียหายหรือถูกทำลายจากการติดเชื้อ การบาดเจ็บ การได้รับสารพิษ อุณหภูมิที่สูงหรือต่ำผิดปกติจะเป็นสาเหตุทำให้ปริมาณของสารสื่อต่างๆ ที่เกี่ยวกับการบาดเจ็บ ได้แก่ พรอสตาแกลนดิน ลิวโคโครอีน และไซโตไคน์ต่างๆ เช่น tumor necrosis factors (TNFs) ทั้งหมดนี้พบว่าล้วนมีบทบทนำไปสู่การเกิดอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น โรคบางโรคที่มีการยืนยันอย่างกว้างขวางว่าอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุหนึ่งของโรคและมีบทบาทสำคัญที่ทำให้โรคกำเริบมากขึ้น ได้แก่ โรคหัวใจและสมองขาดเลือด โรคความผิดปกติในระบบประสาทและโรคมะเร็ง โรคเบาหวาน (โอภา วัชระคุปต์. 2550)

2.8 ดัชนีชี้วัดความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชัน (Total Antioxidant Capacity, TAC)

จากการที่ร่างกายและเซลล์มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นได้หลายชนิด จึงมีระบบควบคุมป้องกันไม่ให้มีอนุมูลอิสระเกินสมดุลที่จะทำให้เกิดอันตราย ระบบป้องกันอันตรายจากอนุมูลประกอบด้วย สารขจัดอนุมูลอิสระหรือสารต้านออกซิเดชัน ซึ่งมีทั้งสารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่

เช่น อัลบูมอน เฟอร์ริติน และสารที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก เช่น วิตามินซี และกรดยูริก เป็นต้น และเอนไซม์ขจัดอนุมูลซึ่งมีอยู่หลายชนิด การใช้ดัชนีจากการหาปริมาณสารต้านออกซิเดชันเดี่ยว ๆ หรือการวัดปริมาณการเกิดสารชีวโมเลกุลที่ถูกอนุมูลอิสระทำให้เสียหายเป็นดัชนีวัดภาวะถูกออกซิไดส์เกินสมดุล ว่ามีระดับมากน้อยเพียงใดนั้น อาจไม่เป็นค่าที่สะท้อนถึงภาพรวมของภาวะออกซิเดชันของภาวะออกซิเดชัน ซึ่งเป็นการรวมองค์ประกอบทั้งหมดหรือภาวะรีด็อกซ์โดยรวม และใช้เป็นดัชนีชี้วัดภาวะออกซิเดชันของร่างกายโดยตรวจวัดจากเลือด พลาสมาและของเหลวที่ได้จากร่างกาย ในการวิเคราะห์มีหลักการสำคัญในการวิเคราะห์ คือ

ก. การวิเคราะห์การส่งผ่านอะตอมไฮโดรเจน (Hydrogen atom transfer, HAT) เช่น วิธี ORAC และวิธี TRAP

ข. การวิเคราะห์จากการส่งผ่านอิเล็กตรอนเดี่ยว (Electron transfer, ET หรือ SET) ได้แก่ วิธี FRAP และวิธี TEAC เป็นต้น

วิธีวิเคราะห์โดยใช้หลักการ HAT จะวัดความสามารถของสารต้านออกซิเดชันในเลือดหรือพลาสมาในการขจัดอนุมูลอิสระโดยวิธีการให้อะตอมไฮโดรเจน

$$X^{\bullet} + AH \longrightarrow XH + A^{\bullet}$$

วิธีการนี้จะหาพลังงานที่ทำให้พันธะของหมู่ที่จะให้อะตอมไฮโดรเจนแตกออก (bond dissociation energy, BDE) สารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันจะมีค่า BDE ประมาณ -10 กิโลแคลอรี/โมล และมีค่าความต่างศักย์ของการแตกตัว (ionization potential, IP) ต่ำกว่า -36 กิโลแคลอรี/โมล ในการหาดัชนี TAC เป็นการวัดความสามารถในการแข่งขันในเชิงจลศาสตร์ ปฏิกิริยา HAT จะไม่ขึ้นกับตัวทำละลาย ค่าพีเอช แต่หากมีสารรีดิวซ์หรือโลหะอยู่ด้วยจะให้ การวิเคราะห์โดยวิธี HAT จะไม่ขึ้นกับตัวทำละลายและค่าพีเอช แต่หากมีสารรีดิวซ์หรือโลหะอยู่ด้วยจะทำให้การวิเคราะห์ โดยวิธี HAT ซับซ้อนและส่งผลหาค่าที่วิเคราะห์ได้สูงกว่า ความเป็นจริง วิเคราะห์โดยใช้หลักการ SET หรือ ET เป็นหารหาความสามารถในการส่งผ่านอิเล็กตรอนไปรีดิวซ์สารอื่นได้แก่ โลหะ และอนุมูล สารต้านออกซิเดชันจะขจัดอนุมูลโดยกลไก HAT และ SET ซึ่งให้ผลผลิตที่เหมือนกันในขั้นสุดท้าย แม้ว่าจะมีกลไกทางจลนศาสตร์และ เกิดสารข้างเคียงที่แตกต่างหันเมื่อรวมสมาการที่ (1)-(3) ในกลไก SET จะได้ผลเช่นเดียวกับสมการของกลไก HAT ดังแสดงข้างต้น

$$X^{\bullet} + AH \longrightarrow X^{-} + AH^{\bullet+} \quad (1)$$

$$AH^{\bullet+} + H_2O \longrightarrow A^{\bullet} + H_3O^{+} \quad (2)$$

$$X^{-} + H_3O \longrightarrow XH + H_2O \quad (3)$$

ในการวิเคราะห์จะเกิดกลไกทั้งสอง คือ HAT และ ET ควบคู่กันไปเสมอ วิธี SET จะเปรียบเทียบความสามารถในการทำให้โปรตอนหลุดออกจากโมเลกุลและการแตกออกเป็นอิออน การที่ปฏิกิริยา SET เกิดลดลงเมื่อมีค่าพีเอชเพิ่มขึ้น แสดงถึงความสามารถในการให้อิเล็กตรอนแก่โปรตอนสารต้านออกซิเดชันที่เกิดกลไก SET จะมีค่า IP มากกว่า -45 กิโลแคลอรี/โมล ปฏิกิริยา ET จะช้าและเวลานานกว่าปฏิกิริยาจะสิ้นสุด ดังนั้นการคำนวณค่า TAC จะวิเคราะห์หาปริมาณลดลงเป็นร้อยละเท่าใดมากกว่าจะคำนวณหาค่าทางจลนศาสตร์ วิธี SET จะไวต่อวิตามินซีและกรดยูริก สารปนเปื้อนและโลหะจะรบกวนวิธี SET ทำให้การวิเคราะห์มีความแปรปรวนสูง

วิธีการวิเคราะห์แบ่งเป็นวิธีการวัดโดยอ้อมและวิธีการวัดโดยตรง

วิธีวิเคราะห์หาค่า TAC โดยอ้อม วิธีวิเคราะห์จะทำให้มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นหาความสามารถของสารตัวอย่าง ได้แก่ เลือด พลาสมา ในการยับยั้งหรือขจัดอนุมูลอิสระที่ทำเกิดขึ้น ถือเป็นการวิเคราะห์โดยอ้อม ได้แก่ วิธี TRAP ORAC และ TEAC เริ่มด้วยการทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นและนำเลือดหรือพลาสมาเติมลงไปหลังจากนั้นจึงวัดความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ โดยวัดปริมาณอนุมูลอิสระที่ลดลงหรือที่เหลือ

ตารางที่ 2.1 วิธีวิเคราะห์หาความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชัน

การวิเคราะห์หาความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชัน	วิธีวิเคราะห์
Oxygen radical absorbance capacity assay (ORAC)	วิธีโดยอ้อม HAT
Photochemiluminescence assay (PCL)	
TEACI ($ABTS^{\bullet+}$/ metmyoglobin)	วิธีโดยอ้อม SET
TEAC II ($ABTS^{\bullet+}$ โดย manganese dioxide MnO_2)	วิธีโดยอ้อม SET
TEAC II ($ABTS^{\bullet+}$ โดย potassium persulfate KO_8S_2)	วิธีโดยอ้อม SET
Diphenyl-l-picrylhydrazyly assay (DPPH)	SET
Total radical-trapping antioxidant parameter (TRAP)	วิธีโดยอ้อม HAT
Ter ferric reducing ability of plasma assay (FRAP)	วิธีโดยตรง SET

TEAC = trolox equivalent antioxidant capacity assy, ABTS = 2,2(-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid radical,HAT = hydrogen atom transfer, SET = single electron transfer

วิธี TRAP วิธีนี้จะใช้สารประกอบกลุ่มเอโซ ABTS ABAP AAPH, 2,2'-azobis (2-amidopropane) ซึ่งสลายตัวให้อนุมูลเปอร์ออกซี ซึ่งหาปริมาณได้จากการที่อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นไปทำปฏิกิริยาออกซิเดชันกับสาร ABTS กิดเป็นอนุมูลที่มีสี $ABTS^{\bullet+}$ มีค่า λ_{max} ที่ 660,734 และ 820 นาโนเมตร ซึ่งการวัดค่า TAC ทำโดยดูความสามารถของเลือดพลาสมา ในการต้านออกซิเดชันเมื่อนำเลือดไปผสมกับสารทดสอบ จะทำให้เกิดสีของ $ABTS^{\bullet+}$ ช้าลง หรือเกิดสาร $ABTS^{\bullet+}$ น้อยลงทำให้มีสีจางซึ่งสามารถวัดหาปริมาณวัดหาปริมาณได้ การวิเคราะห์ทำได้ทั้งการวัดระยะเวลาในการเกิดสี $ABTS^{\bullet+}$ หลังจากเติมเลือดหรือพลาสมา หรือวัดปริมาณ $ABTS^{\bullet+}$ ที่เกิดขึ้นจากค่าดูดกลืนแสงในเวลาที่กำหนด วิธีการวัดโดยกำหนดเวลา ถึงแม้ว่าจะสะดวกและได้ค่าถูกต้องแม่นยำดี แต่เนื่องจากมีปัจจัยอื่นๆ เข้ามามีบทบาททำให้การแปลผลซับซ้อน เช่น ระยะเวลาที่ใช้ในการเกิดสีและอัตราการเกิดออกซิเดชัน ดังนั้นจึงมีการพัฒนาวิธีโดยการวัดพื้นที่ใต้เส้นกราฟ (AUC) ซึ่งจะให้ค่าที่ถูกต้อง แต่ยุ่งยากไม่สะดวกในการปฏิบัติและใช้เวลาในการวิเคราะห์

วิธี TRAP มีการพัฒนาต่อมาโดยการใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ทำปฏิกิริยากระตุ้นเมทไมโอโกลบินเกิดเป็นอนุมูลเฟอร์ริลไมโอโกลบิน อนุมูลเฟอร์ริลไมโอโกลบินไปทำปฏิกิริยากับ ABTZ เกิดเป็นอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ ที่มีสี ดังนั้นเมื่อเติมเลือดหรือสารที่ต้องการวิเคราะห์ลงไปในสารผสมที่ใช้ทดสอบเลือดหรือสารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันจะยับยั้งปฏิกิริยาให้สีที่เกิดขึ้นลดลง

วิธีการนี้อาจวัดค่าดูดกลืนแสงของ $ABTS^{\bullet+}$ ที่ λ_{max} เท่ากับ 734 นาโนเมตร วัดที่จุดเดียวในเวลาที่กำหนด หรือวัดอัตราความเร็วในการเกิด $ABTS^{\bullet+}$ โดยบันทึกค่าการดูดกลืนแสงหลังจากการเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ หรือระบุเป็นค่าระยะเวลาที่ใช้ก่อนเกิดปฏิกิริยา (lag time) หรือ ค่าระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาโดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานโทรร็อก

วิธี ORAC จัดเป็นวิธีการวิเคราะห์โดยอ้อมอีกวิธีหนึ่ง วิธี ORAC ใช้ออกซีไม่ให้ทำปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ด้วยกลไก HAT การวิเคราะห์จะวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ โดยอนุมูลเปอร์ออกซีให้ทำปฏิกิริยาเปลี่ยนสารที่ให้แสงฟลูออเรสเซนซ์ไปเป็นสารที่ไม่ให้แสงฟลูเรสเซนซ์ ดังนั้นเมื่อเติมเลือดหรือสารต้านอนุมูลอิสระลงไปขจัดอนุมูลเปอร์ออกซี จึงทำให้มีแสงฟลูออเรสเซนซ์เพิ่มขึ้นตามปริมาณและความแรงของสารทดสอบที่เติมลงไป วิธีนี้จะใช้ β-phycoerythrin (β-PE) แทน $ABTS^{+}$ ซึ่ง β-PE มีสมบัติให้แสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ 565 นาโนเมตร เมื่อถูกกระตุ้นด้วยแสงหรือรังสีที่มีความยาวคลื่นเท่ากับ 540 นาโนเมตร β-PE จะถูกทำลายโดยอนุมูลอิสระ ทำให้สมบัติในการให้แสงฟลูออเรสเซนซ์เสียไป ดังนั้นเมื่อผสมสารเอโซ AAPH ซึ่งจะสลายตัวให้อนุมูลเปอร์ออกซี (สมการที่ 1) อนุมูลเปอร์ออกซีจะทำให้เกิดแสงฟลูออเรสเซนซ์ของ β-PE ลดลง (สมการที่ 2) ดังนั้นการเติมซีรั่มหรือสารต้านออกซิเดชันลงไปในสารละลายทดสอบจะยับยั้งการสูญเสียแสงฟลูออเรสเซนซ์ของ β-PE (สมการ 3 และ 4)

$$\underset{\text{(AAPH)}}{R{=}N{=}N{-}R} \longrightarrow N_2 + 2\,ROOR^{\bullet} \qquad (1)$$

$$ROO^{\bullet} + \beta\text{-PE หรือ FL} \longrightarrow \underset{\text{ไม่ให้แสงฟลูออเรสเซนซ์}}{ROOH + \text{oxidized-}\beta\text{-PE หรือ FL}} \qquad (2)$$

แสงฟลูออเรสเซนซ์

$$ROO^{\bullet} + AH \longrightarrow ROOH + A^{\bullet} \qquad (3)$$

กลไก HAT

สารต้านอนุมูลอิสระ

$$ROO^{\bullet} + A^{\bullet} \longrightarrow ROOA \qquad (4)$$

โปรตีน β-PE เป็นสารที่ให้แสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ใช้ในระยะแรก ซึ่งต่อมา β-PE ไม่เป็นที่นิยมเนื่องจาก β-PE มีความแปรปรวนสูงในการเกิดปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ และแสงฟลูออเรสเซนซ์จะลดลงเมื่อถูกแสง นอกจากนี้สารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มโพลีฟีนอล โดยเฉพาะโปรแอนโทไซยานิดินจะจับกับโปรตีน β-PE ทำให้ได้ค่า ORAC ต่ำกว่าความเป็นจริง ปัจจุบันนิยมใช้ฟลูออเรสซีน (fluorescein,FL) หรือไดคลอโรฟลูออเรสซีน (H_2DCF-dA) ซึ่งมีความคงตัวและ ไม่ไวต่อปฏิกิริยาจนเกินไป ในการวิเคราะห์จะดูผลการเกิดปฏิกิริยาเป็นเวลาประมาณ 30 นาที เพื่อให้ได้ค่า ORAC ที่ถูกต้องสมบูรณ์จะวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยคำนวณจากพื้นที่ใต้กราฟ AUC ของการลดลงของแสงฟลูออเรสเซนซ์เมื่อเติมเลือดหรือสารต้านอนุมูลอิสระลงไปในสารละลายทดสอบจะทำให้การลดลงของแสงเกิดช้ากว่าและลดลงน้อยกว่า

เพื่อลดความแปรปรวนจากสารเคมี จากเครื่องมือ และจากผู้วิเคราะห์ ค่า ORAC จะคำนวณเป็นค่าที่สมมูลกับสารมาตรฐานโทรร็อก หรือ trolox exquivalent (TE) มีหน่วยเป็นไมโครโมลเทียบเท่าโทรร็อกต่อสารตัวอย่าง 1 ลิตร หรือ 1 กรัม (μM ของ TE/L ของ μM ของ TE/g)

ข้อจำกัดของวิธี ORAC คือเป็นวิธีที่วัดเฉพาะความสามารถในการหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ที่เกิดจากอนุมูลเปอร์ออกซีที่ละลายน้ำเท่านั้น ไม่ได้วัดความสามารถรวมในการต้านอนุมูลชนิดอื่นๆ โดยเฉพาะฤทธิ์ต้านอนุมูลในลิพิดซึ่งมีความสำคัญในการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน จึงมีการพัฒนาเปลี่ยนตัวทำละลายในการวิเคราะห์เป็นสารละลายของอนุพันธ์ไซโคลเด็กซ์ตริน (7% RMCD ในสารละลายอะซิโตน 50%) วิธี ORAC ได้พัฒนาโดยการใช้แผ่น microplate ชนิด 48 หลุม หรือ 96 หลุม โดยแผ่นทดสอบ 48 หลุม จะมีความแปรปรวนต่ำกว่า 96 หลุม ทำให้การวิเคราะห์ทำได้รวดเร็วและใช้ปริมาณสารทดสอบน้อยลง

วิธี FRAP วิธีนี้เป็นวิธีวิเคราะห์หาค่า TAC โดยตรง มีหลักการว่าสารต้านออกซิเดชันในร่างกายทำหน้าที่โดยการให้อิเล็กตรอนจึงจัดเป็นสารรีดิวซ์ ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่า TAC เป็นความสามารถรวมในการรีดิวซ์ วิธีนี้ใช้สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก Fe^{3+}-TPTZ (ferric tripyridyl triazine) เป็นสารทดสอบ อะตอมเหล็กในสารนี้จะถูกรีดิวซ์โดยเลือด ซึ่งประกอบด้วยสารต้านออกซิเดชันหลายชนิด ได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กเฟอร์รัส Fe^{3+}-TPTZ ซึ่งมีสีน้ำเงินดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร

วิธี FRAP จะวัดความต่างศักย์ของการรีดอกซ์ที่มีค่าต่ำกว่า 0.7 โวลท์ ซึ่งเป็นค่าความต่างศักย์ของสมการรีดอกซ์ของ Fe^{3+}-TPTZ ดังนั้น วิธี FRAP สามารถใช้วัดภาวะรีด็อกซ์ของเซลล์และเนื้อเยื่อ แต่วิธี FRAP ไม่สามารถวัดสารต้านออกซิเดชันที่ขจัดอนุมูลอิสระโดยการให้อะตอมไฮโดรเจน (HAT) เช่น หมู่ไทออลในโปรตีน ดังนั้นเมื่อวิเคราะห์เลือดหรือพลาสมาวิธี FRAP จึงให้ค่าต่ำกว่าความเป็นจริง

เนื่องจากความต่างศักย์รีด็อกซ์ของ Fe(III)-TPTZ มีค่าใกล้เคียงกับค่าของ $ABTS^{\bullet+}$ ซึ่งใช้ในวิธีวิเคราะห์ TEAC ดังนั้นสารต้านออกซิเดชันจำพวกเดียวกันมีโครงสร้างที่คล้ายกันจะทำปฏิกิริยาได้ทั้งในวิธีวิเคราะห์ FRAP และวิธี TEAC แม้ว่าทั้งสองวิธีจะมีความแตกต่างกันในเรื่องของค่าพีเอช โดยวิธี TEAC จะวิเคราะห์โดยทำปฏิกิริยาในสภาวะเป็นกลาง ส่วนวิธี FRAP จะทำในสภาวะกรดมีค่าพีเอชเท่ากับ 3.6 เพื่อให้สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กละลายได้ เนื่องจากปฏิกิริยาที่เกิดที่พีเอชต่ำหรือเป็นกรดจะลดค่าความต่างศักย์ในการแตกตัวเป็นไอออน ทำให้เร่งการส่งผ่านอิเล็กตรอนและเพิ่มค่าความต่างศักย์รีดอกซ์ ดังนั้นถึงแม้ว่าค่าที่ได้จากทั้งสองวิธี FRAP และ TEAC จะให้ค่าที่ไปในทิศทางเดียวกัน แต่ค่าที่ได้จากวิธี FRAP จะมีค่าต่ำกว่าวิธี TEAC เสมอ และค่าที่ได้จากวิธี FRAP ส่วนใหญ่จะไม่สัมพันธ์กับค่าที่หาโดยวิธีอื่นๆ

ถึงแม้ว่าความสามารถในการรีดิวซ์เหล็กจะมีความสัมพันธ์ไม่มากนักกับการขจัดอนุมูลอิสระโดยการให้อะตอมไฮโดรเจน แต่การที่อนุมูลอิสระถูกออกซิไดซ์หรือถูกรีดิวซ์ให้เป็นไอออนเป็นการหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ ดังนั้นการวัดความสามารถในการรีดิวซ์โดยวิธี FRAP จึงแสดงถึงภาวะรีดอกซ์ของพลาสมาเนื่องจากวิธี FRAP จะเป็นการวิเคราะห์โดยใช้เฉพาะหลักการ SET เท่านั้น ดังนั้นสมควรนำผลการวิเคราะห์โดยวิธีอื่นๆ มาประกอบการประเมินผลด้วยเพื่อให้มีความถูกต้องดีขึ้น

ทั้งวิธี TEAC และวิธี FRAP เป็นการวิเคราะห์หาความสามารถในการรีดิวซ์ซึ่งเกิดอย่างรวดเร็วภายใน 4-6 นาที แต่ในการวิเคราะห์สารต้านออกซิเดชันจากพืชจำพวกโพลีฟีนอลจะพบว่าค่าดูดกลืนแสงที่ 595 นาโนเมตร จะเพิ่มขึ้นเมื่อตั้งทิ้งไว้ ดังนั้นการวัดครั้งเดียวตามเวลาที่กำหนด จึงอาจไม่ใช้ค่าที่เกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ วิธี FRAP มีข้อดีคือเป็นวิธีที่ง่าย ใช้เวลาน้อยไม่แพงและไม่ต้องใช้เครื่องมือพิเศษ แต่มีข้อเสียคือกลไกของปฏิกิริยาที่ใช้ในการวิเคราะห์ไม่เกี่ยวข้องกันกับกลไกในร่างกาย

วิธี TEAC แม้ว่าวิธี TEAC และวิธีวิเคราะห์อื่นๆ โดยการใช้ ABTS เป็นสารให้กำเนิดอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ และวัดการขจัด $ABTS^{\bullet+}$ เปรียบเทียบกับโทรล็อกซึ่งเป็นอนุพันธ์ของวิตามินอีที่ละลายน้ำจะใช้ปฏิกิริยาที่จัดอยู่ในประเภท SET แต่สารบ่งชี้ที่ใช้ในวิธี TEAC

สามารถเกิดปฏิกิริยาได้ทั้ง 2 แบบ โดยการเกิดรีดักชันโดยตรงด้วยกลไก SET และโดยการขจัดอนุมูลอิสระด้วยกลไก HAT วิธี TEAC เป็นการวัดความสามารถในการขจัดอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ ที่มีความคงตัว วิธีนี้ ABTS จะถูกออกซิไดส์โดยอนุมูลเปอร์ออกซีเกิดเป็นอนุมูลอิสระที่มีประจุบวก $ABTS^{\bullet+}$ และมีสี ดังนั้นเมื่อเติมเลือด พลาสมา หรือสารต้านอนุอิสระมูลลงไปจะทำให้มีสีลดลง ผลการวิเคราะห์จะคำนวณเป็นค่าที่สมมูลกับสารต้านอนุมูลมาตรฐานโทรร็อก จึงมีชื่อว่า Trolox Equivalent Antioxidant Capacity วิธี TEAC มีการพัฒนาตามลำดับ โดยวิธี TEAC แรกเริ่มใช้เมทไมโอโกลบินกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ทำปฏิกิริยากันเกิดเป็นอนุมูลอิสระ ferrylmyo globin ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับ ABTS ให้เป็นอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ ที่มีสีที่มีค่า λ_{max} หลายค่า โดยค่า λ_{max} ที่ 415 นาโนเมตรและ 734 นาโนเมตร เป็นค่าความยาวคลื่นที่นิยมใช้ในการวัดการดูดกลืนแสงของ $ABTS^{\bullet+}$ ในการวิเคราะห์จะวัดค่าการดูดกลืนแสงของ $ABTS^{\bullet+}$ ที่ลดลงจากค่าควบคุมเมื่อไม่ได้เติมสารทดสอบหรือเลือด

นำค่าที่ลดลงมาทำการเปรียบเทียบกับค่าที่สารมาตรฐานโทรร็อก ในระยะแรกของการวิเคราะห์ จะใส่สารทดสอบหรือพลาสมาและสารอื่นๆ รวมกันก่อนแล้วจึงทำให้เกิดอนุมูลอิสระโดยการเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นขั้นสุดท้าย ซึ่งทำให้ได้ค่าสูงกว่าความเป็นจริง หลังจากนั้นจึงมีการพัฒนาวิธีโดยเปลี่ยนลำดับการเติมสารทดสอบโดยผสมสารหรือเลือดที่ต้องการวิเคราะห์เป็นขั้นตอนสุดท้ายภายหลังจากการทำให้เกิดอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ การพัฒนาต่อมาทำโดยนำสารอื่นไปทำให้เกิดอนุมูลอิสระ $ABTS^{\cdot+}$ เช่น ใช้แมงกานีสไดออกไซด์ หรือโปตัสเซียมเปอร์ซัลเฟต ซึ่งจะทำให้สามารถวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายได้ดีในลิพิด นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาวิธีการทำให้เกิด $ABTS^{\bullet+}$ โดยใช้เอนไซม์เปอร์ออกซิเดสจาก horseradish ซึ่งมีข้อดีคือใช้เวลาน้อยกว่าและเป็นปฏิกิริยาที่ไม่ต้องใช้สภาวะรุนแรง เช่น อุณหภูมิสูงหรือใช้สารเคมีต่างๆ นอกจากนี้การใช้เอนไซม์ทำให้สามารถศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ในค่าพีเอชในช่วงกว้าง แต่ต้องคำนึงไว้ว่าในภาวะกรดจะเพิ่มการเกิด trolox exquivalent

ข้อดีของวิธี TEAC คือทำได้ง่าย อนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ จะทำปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วกับสารต้านอนุมูลอิสระภายในเวลา 30 นาที ปกติจะใช้เวลาประมาณ 5 นาที การวิเคราะห์ทำได้ในช่วงพีเอชที่กว้าง ทำให้สามารถศึกษากลไกได้โดยละเอียด อนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ ละลายได้ทั้งในน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ ใช้วิเคราะห์หาความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารต่างๆ

ไม่ว่าจะเป็นสารที่ละลายน้ำหรือสารที่ละลายในลิพิด ส่วนข้อเสียของวิธี TEAC คือ ABTS ไม่เป็นสารตามธรรมชาติที่ก่อให้เกิดอนุมูลอิสระในเซลล์หรือในร่างกายเช่นเดียวกับ Fe(III)-TPTZ

วิธี DPPH อนุมูล DPPH$^{\cdot}$ เป็นอนุมูลไนโตรเจนที่คงตัว มีสีม่วงอยู่ในรูปอนุมูลอยู่แล้ว โดยไม่ต้องทำปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดอนุมูลเหมือนกับกรณีอนุมูลอิสระ ABTS$^{\cdot+}$ การวิเคราะห์เป็นการวัดความสามารถในการรีดิวซ์ การวัดทำโดยใช้เครื่องมือ EPR (ESR) หรือใช้เครื่องสเปคโตรสโกปีวัดการลดลงของสี เมื่อเติมสารต้านอนุมูลอิสระลงไป โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร

ต่อมาได้มีการพัฒนามาใช้ DPPH$^{\cdot}$ ในการหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเรียกว่า Antiradical Efficiency (AE) โดยคำนวณจากสมการ

$$AE = 1/EC_{50}T_{EC50}$$

EC_{50} = ความเข้มข้นของสารทดสอบที่สามารถลดปริมาณ DPPH$^{\cdot}$ เริ่มต้นลงได้ 50%

T_{EC50} = เวลาที่ใช้ในการลดปริมาณอนุมูลอิสระให้ได้ EC_{50}

ข้อดีของวิธีนี้คือ ง่ายใช้เครื่องมือสามัญที่มีทั่วไป จึงนิยมใช้เป็นวิธีเบื้องต้นในการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารธรรมชาติ ยกเว้นสารกลุ่มแคโรตินอยด์ที่มีการดูดกลืนแสงในย่านเดียวกัน ข้อด้อยของวิธีนี้คือ อนุมูลอิสระ DPPH$^{\cdot}$ มีความคงตัวไม่ไวต่อปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลที่เกิดในเซลล์หรือร่างกาย ดังนั้นวิธีนี้จึงไม่สามารถใช้จัดอันดับอนุมูลอิสระที่ความไวสูงได้ นอกจากนี้อิเล็กตรอนเดี่ยวของ DPPH$^{\cdot}$ จะถูกบดบังด้วยวงเบนซีน 3 วง และหมู่ไนโตรในโครงสร้าง ทำให้สารต้านอนุมูลอิสระที่มีฤทธิ์แรงแต่มีขนาดใหญ่ไม่สามารถเข้าไปทำปฏิกิริยาขจัดอนุมูลหรือเกิดปฏิกิริยาช้ากว่าความเป็นจริง ทั้งๆ ที่สารต้านอนุมูลอิสระนั้นมีฤทธิ์ดีในการขจัดอนุมูลเปอร์ออกซี นอกจากนี้สารรีดิวซ์สามารถทำให้สี DPPH$^{\cdot}$ จางลงได้อีกด้วย (โอภา วัชระคุปต์. 2550)

2.9 วิธีที่นิยมใช้ในการศึกษาความสามารถของการต้านอนุมูลอิสระ

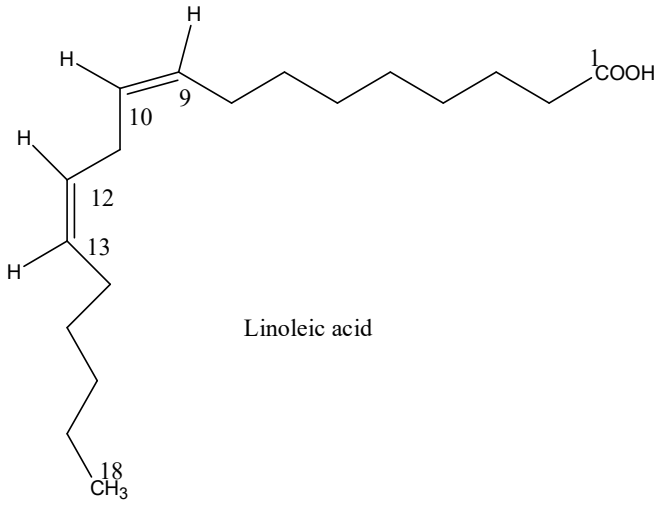
การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ ที่นิยมใช้กันทั่วไปมี 3 วิธี คือ

1. Antioxidant activity ซึ่งการวิเคราะห์หาประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการต่อต้านการเกิดอนุมูลอิสระของกรดลิโนลีอิค

2. Reducing power เป็นการวิเคราะห์หาความสามารถในการรีดิวซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ

3. Scavenging effect on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radicals (DPPH) เป็นการวิเคราะห์ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการกำจัดสาร DPPH ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระชนิดหนึ่งโดยได้อธิบายรายละเอียดของแต่ละวิธีดังนี้

1. การวิเคราะห์หาประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการต่อต้านการเกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ของกรดลิโนลีอิค (Antioxidant activity)



Linoleic acid

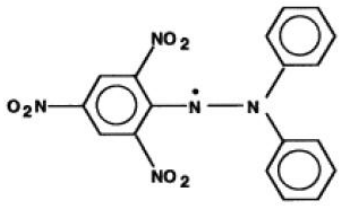
กรดลิโนลีอิคเป็นกรดไขมันชนิดหนึ่งที่มีพันธะคู่เป็นส่วนประกอบ ทำให้กรดนี้สามารถจับกับอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในระบบทำให้กลายเป็นอนุมูลอิสระ จากนั้นจึงทำปฏิกิริยากับออกซิเจนในอากาศได้ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ซึ่งเป็น conjugated diene ที่เสถียร (Erikson,1987) สารต้านอนุมูลอิสระที่มีพันธะคู่เป็นส่วนประกอบ ทำให้สารต้านนี้สามารถให้อิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระได้ จึงสามารถลดการเกิดเป็นอนุมูลอิสระของกรดลีโนลีอิกได้ ด้วยเหตุนี้ประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการต่อต้านการเกิดอนุมูลอิสระของกรดลิโนลีอิค จึงวัดได้โดยการเติม

สารต้านอนุมูลอิสระลงในสารละลายที่มีกรดลิโนลีอิคผสมอยู่ทิ้งไว้ระยะหนึ่ง จากนั้นใช้เครื่อง UV Spectrophotometer วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายความยาวคลื่น 234 นาโนเมตร ค่าที่ได้นี้แปรผันกับความเข้มข้นของไฮโดรเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้น ดังนั้น การลดลงของค่าการดูดกลืนแสงจึงบ่งบอกได้ถึงความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการต่อต้านการเกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ได้

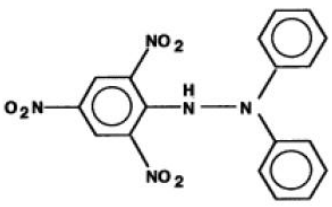
2. การวิเคราะห์หาความสามารถในการรีดิวซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ (Reducing power) สารที่เป็นรีดิวซิงเอเจนต์ สามารถจ่ายอิเล็กตรอนให้กับอะตอมหรือโมเลกุลในตระกูลของโลหะที่สามารถแตกตัวเป็นไอออนได้ (เช่น เหล็ก ทองแดง เป็นต้น) (Halliwell and Gutteridge,1984) เหล็กที่อยู่ในภาพเฟอร์ริคไอออน (Fe^{3+}) มีความสามารถในการดึงอิเล็กตรอนจากสารอื่นๆ ได้ดี ในด้านชีวเคมีอนุมูลอิสระที่พบมากที่สุดเป็นสารที่มีออกซิเจนและไวต่อปฏิกิริยา (ROS) ไอออนอิสระของเหล็กสามารถเป็นตัวเร่งการเกิด ROS เช่น อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และอนุมูล ไฮดรอกซิล เป็นต้น เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของแต่ละสารที่สกัดได้ ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างเฟอร์ริคไอออนกับสารสกัดแต่ละชนิดมีค่าคงที่และค่าของการดูดกลืนแสงที่วัดได้ที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร จากเครื่องมือวิเคราะห์สารโดยใช้หลักการทางสเปคโตรสโคปี (UV Spectrophotometer) จะมีค่าแปรผันตามความเข้มข้นของเฟอร์รัสไอออนที่เกิดขึ้น ดังนั้น การเพิ่มขึ้นของค่าการดูดกลืนแสงจึงบ่งบอกได้ถึงความสามารถของการเป็นรีดิวซิงเอเจนต์

3. การวิเคราะห์ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยสาร DPPH [Scavenging effect on 1,1- diphenyl-2-picrylhydrazyl radicals (DPPH)]

DPPH คือ อนุภาคอิสระที่เสถียรและสามารถรับอิเล็กตรอนได้ เพื่อเปลี่ยนเป็นโมเลกุลที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระและเมื่อได้รับอะตอมไฮโดรเจนจากโมเลกุลอื่นจะทำให้สารดังกล่าวไม่เป็นอนุมูลอิสระ



1: Diphenylpicrylhydrazyl (free radical)



2: Diphenylpicrylhydrazine (nonradical)

ดังนั้น ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระที่ศึกษานี้เป็นการศึกษาประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการรวมตัวกับ DPPH ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่เสถียรที่อยู่ในสารละลาย (นิยมใช้ DPPH ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระมาก เพราะใช้งานง่าย) โดยในการทดสอบนี้จะให้ DPPH (มีสีม่วงเข้ม) ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระในระยะเวลาที่กำหนด ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร จะแปรผันกับความเข้มข้นของ DPPH ดังนั้นการลดลงของความเข้มข้นของ DPPH (สีอ่อนลง) บ่งบอกถึงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระ

2.10 แบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์

2.11 *E. coli*

2.11.1 ลักษณะการเจริญเติบโตและปฏิกิริยาทางชีวเคมี

E. coli เจริญได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดธรรมดา เมื่อเลี้ยงบนอาหารชนิดที่แสดงความแตกต่างของเชื้อ เช่น MacConkey agar โคโลนีมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2-3 มิลลิเมตร และมีสีชมพูแดง เนื่องจากหมักย่อยแลคโตสได้ (lactose fermenter) กรดที่เกิดจากการหมักย่อยน้ำตาลจะทำให้สีของอินดิเกเตอร์ในอาหารเปลี่ยนไปจากเดิม เชื้อบางสายพันธุ์ไม่สามารถย่อยน้ำตาลแลคโตสได้ (non-lactose fermenter) ซึ่งให้ลักษณะโคโลนีที่ไม่มีสี บางสายพันธุ์ให้ผลการหมักช้าซึ่งอาจนานถึง 7 วัน (late lactose fermenter)

คุณลักษณะที่สำคัญของการวินิจฉัย *E. coli* ได้แก่ การทดสอบ IMViC ให้ผล ++ - - คือ Indole และ Metyl Red ให้ผลบวก ส่วน Voges Proskauer และ Citrate ให้ผลลบ ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ได้

2.12 คุณสมบัติของแอนติเจน

แอนติเจนของ *E. coli* มีหลายชนิดคือ

2.12.1 แอนติเจน O มี 162 ชนิด อยู่ในชั้นผนังเซลล์ ทนต่อความร้อนที่ 121 ^{0}C ได้ดี

2.12.2 แอนติเจน K มี 100 ชนิดซึ่งอาจเป็น L, A หรือ B แอนติเจนนี้เป็นส่วนหนึ่งของแคปซูลที่หุ้มตัวแบคทีเรียและคลุมแอนติเจน O ทำให้เชื้อไม่เกาะกลุ่มกันในแอนติซีรัม O ยกเว้นต่อเมื่อทำลายแอนติเจน K เสียก่อนโดยการต้มที่ 100 ^{0}C นาน 2.5 ชั่วโมง หรือที่ 121 ºC นาน 2 ชั่วโมง

2.12.3 แอนติเจน H มี 52 ชนิด เป็นส่วนของแฟลกเจลลาของแบคทีเรีย จะถูกทำลายเมื่อนำไปต้มที่ 100ºC

แอนติเจน O, K และ H มีคุณสมบัติทางกายภาพและภูมิคุ้มกันวิทยาต่างกัน และการแยก serotype ของเชื้อขึ้นอยู่กับชนิดของแอนติเจนเหล่านี้

2.13 การทำให้เกิดโรคและพยาธิสภาพ

E. coli มีอยู่ทั่วไปในดิน น้ำ และลำไส้ของคนและสัตว์โดยไม่ทำให้เกิดโรค มีบาง serotype ทำให้เกิดโรคในคน คือ

2.13.1. โรคอุจจาระร่วง (Diarrheal diseases) *E. coli* บาง serotype ทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วงพบมากในเด็กอายุต่ำกว่า 2 ขวบ (Infantile Diarrhea) และพบในผู้ใหญ่ที่เดินทางไปต่างถิ่น แล้วเกิดเป็นโรคอุจจาระร่วงที่เรียกว่า traveler diarrhea เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วงมี 3 กลุ่มคือ

1) กลุ่ม *Enterotoxigenic*

แบคทีเรียมีสารพิษพวกเอกโซทอกซินซึ่งอาจเป็นชนิดที่ไม่ทนต่อความร้อน หรือชนิดที่ทนต่อความร้อน สารพิษชนิดที่ไม่ทนต่อความร้อนมีคุณสมบัติคล้ายเอนเทอโรทอกซินของ Vibrio cholerae โดยจะกระตุ้นเอนไซม์ adenyl cyclase ใน Epithelial cell ในลำไส้ทำให้เกิดมีอาการคลั่งของ cyclic adenosine monophosbphate (cAMP) ยังส่งผลให้มีการหลั่งของฟลูอิดเข้าไปในลูเมนของลำไส้ ส่วนกลไกการออกฤทธิ์ของสารพิษชนิดทนต่อความร้อนยังไม่ทราบแน่ชัด เชื้อที่สร้างสารพิษได้ ได้แก่ serotype 06 08025 027 078 0148 และ 0159 แต่การที่คนเกิดมีอุจจาระร่วงนั้นไม่ได้ขึ้นอยู่กับการมีเอนเทอโรทอกซินเท่านั้น ยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นๆอีก รวมทั้งความสามารถของเชื้อโรคในการที่จะดำรงตัวเองอยู่ที่ Epithelial Cell ในลำไส้เล็ก การตรวจสอบ enterotoxigenic *E. coli* ทำได้หลายวิธีได้แก่ Rabbit ileal loop test และวิธี tissue culture assay เป็นต้น

2) กลุ่ม *Enteroinvasive*

แบคทีเรียจะทำลาย Epithelial cell ของลำไส้ทำให้ลำไส้เกิดเป็นแผล ผู้ป่วยมีอาการคล้ายกับโรคบิดที่เกิดจากเชื้อ Shigella ได้แก่ serotypes 028 0112 0115 01240136 0143 0144 0147 และ 0152 พวกนี้ใช้วิธี Sereny test

3) กลุ่ม *Enteropathogenic*

กลไกในการก่อให้เกิดโรคในคนยังไม่ทราบแน่ชัด เชื้อกลุ่มนี้ได้แก่ Serotypes 026, 055, 086, 0111, 0114, 0119, 0125, 0126, 0127, 0128 และ 0142 ตรวจหาได้ทางวิธีซีโรโลยีดูการเกาะกลุ่มของเชื้อในแอนติเซรัมจำเพาะ Serotype ที่ก่อให้เกิดโรคในคนอาจตรวจพบได้ในอุจจาระของคนปกติ ผู้ที่ป่วยเป็นโรคอาจมีอาการไข้หรือไม่มีอาการไข้ อุจจาระเป็นน้ำ ต่อมาอาจมีมูกปน ร่างกายอ่อนเพลียเพราะเสียน้ำ และอิเล็คโตรไลท์มาก อาจถึงกับช็อคและตายได้

2.13.2 โรคติดเชื้อของระบบทางเดินปัสสาวะ มักมีสาเหตุมาจากเชื้อที่อาศัยอยู่ในลำไส้ผู้ป่วย

2.13.3. โรคติดเชื้ออื่นๆ เช่น ไส้ติ่งอักเสบ เยื่อบุช่องท้องอักเสบ แผลติดเชื้อ โลหิตติดเชื้อ เป็นต้น

2.11 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สุขภาพร่างกายที่แข็งแรงของคนไทยเป็นหัวใจสำคัญในการดำรงชีวิต เมื่อสุขภาพร่างกายแข็งแรงจะทำให้เกิดการอยู่ดี มีสุข และมีจิตใจที่แข็งแรงสมบูรณ์ตลอดจนเกิดความคิดกลยุทธ์ใหม่ๆ ที่จะทำให้ประเทศเกิดการพัฒนา เนื่องจากในปัจจุบันเกิดสภาวะแวดล้อมที่มีความเปลี่ยนแปลงด้านภูมิอากาศ ทำให้เกิดโรคต่างๆ ตามมาทั้งโรคกลับซ้ำ และอุบัติใหม่ จนทำให้ร่างกายไม่สามารถปรับตัวเข้ากลับสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงได้ ดังนั้นการเลือกใช้ยาที่พัฒนาขึ้นมาจากอนุภาคนาโนเทคโนโลยี จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งเพราะประเทศไทยของเราเป็นประเทศที่พัฒนาในด้านของนาโนเทคโนโลยีที่ก้าวล้ำและทันสมัย ปัจจุบันการนำตัวยาที่พัฒนามาจากอนุภาคนาโนเทคโนโลยีมาใช้ในการต้านเชื้อแบคทีเรียก็มีอยู่มากมาย ซึ่งสารแต่ละตัวจะมีความจำเพาะเจาะจง (Selective action) สูง มีฤทธิ์ทางยาสูงขึ้น (Enhancement of activity) ใช้ในปริมาณที่น้อยลงก็ยังออกฤทธิ์ได้ดี (Lowering of therapeutic dosage) ไม่มีความเป็นพิษ (Lowering of subsequent toxicities)

การศึกษาวิจัยทางด้านการสังเคราะห์สารในอนุภาคนาโนเทคโนโลยีก็มีนักวิทยาศาสตร์มากมายหลายกลุ่มได้ดำเนินการอยู่ในห้องปฏิบัติการต่างๆ ทั่วทุกมุมของโรค เพื่อเป้าหมายเดียวกันคือ การพัฒนาเพิ่มฤทธิ์ให้เป็นยารักษาโรคมนุษย์รวมทั้งใช้ประโยชน์ในด้านอื่นๆ ในที่นี้จะให้รายละเอียดเกี่ยวกับการศึกษาของกลุ่มที่สอดคล้องกับการวิจัย ดังนี้

Kostova, Irena *et al*. (2005 : 542) ทำการสังเคราะห์สารประกอบของ Lanthanum (III) กับ bis-coumarins ศึกษาสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ด้วยเทคนิค EA, IR, ^{1}H-และ ^{13}C-NMR และ mass-spectral data ตามลำดับ โดยสเปกตรัมของสารประกอบเหล่านี้เทียบกับลิแกนด์อิสระ พบว่า La(III) ทำปฏิกิริยากับลิแกนด์ที่ตำแหน่ง deprotonated hydroxyl ทั้ง 2 หมู่ สำหรับ cytotoxicity ใช้เทคนิค MTT assay กับ HL-60, BV-173 และ SKW-3 cell lines ผลที่ได้คาดว่าสารประกอบเหล่านี้เป็นตัวทำให้เกิดการตายของเซลล์ (trigger programmed cell death หรือ apoptosis)

Das Manash R. *et al*. (2011 : 16-22) ได้สังเคราะห์เงินนาโนในสารละลายที่มีแผ่นแกรฟีนออกไซด์ และศึกษาการต้านแบคทีเรีย ผลพบว่า ขนาดและรูปร่างของอนุภาคเงินนาโนขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารละลาย $AgNO_3$ ส่วนการต้านแบคทีเรีย พบว่า อนุภาคเงินนาโนต้านแบคทีเรีย *E.coli* และ *P.aeruginosa* ทั้งในอาหาร Broth และ Agar plate

DiSilvestra *Robert A. et al*. (2005 : 251) ศึกษาผลการต้านอนุมูลอิสระของ soy isoflavone อาจจะช่วยป้องกันการกลับซ้ำของมะเร็งเต้านมได้ แต่ isoflavone ที่ออกฤทธิ์คล้าย estrogen อาจจะเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งเต้านม การออกฤทธิ์เช่นนี้ของ isoflavone เป็นผลมาจากเอนไซม์ 2 ชนิดที่มี copper อยู่คือ superoxide dismutase 1 (SOD 1; ทำหน้าที่ต้านอนุมูลอิสระจึงป้องกันโรคมะเร็งเต้านมได้) และ ceruloplasmin

(เพิ่มการผลิต estrogen เมื่อมีมากจึงเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งเต้านม) จากการศึกษาทางระบาดวิทยาของสตรีเอเชียถึงความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดมะเร็งเต้านมและอาหารที่มีถั่ว พบว่าผู้หญิงเชี่ยงไฮ้ที่มี isoflavone จากปัสสาวะในปริมาณน้อยในสตรีที่เป็นมะเร็งเต้านม เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แสดงว่าสตรีที่บริโภคถั่วปริมาณน้อยมีโอกาสเกิดโรคมะเร็ง

Al-Haiza Mostafa *et al*. (2003 : 275) ใช้ coumarins เป็นกลุ่มของสารอินทรีย์ที่สำคัญในการใช้ประโยชน์ เช่น ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (bactericides), ฆ่าเชื้อรา (fungicides), ต้านการอักเสบ (anti-inflammatory), anticoagulant และ anticancer agents สมบัติทางเภสัชวิทยาเหล่านี้ทำให้นักวิจัยสนใจที่จะสังเคราะห์อนุพันธ์ใหม่ๆ ให้มีมากยิ่งขึ้นไปอีก โดยมีลักษณะที่แตกต่างกันที่วง heterocyclic ที่เชื่อมต่ออยู่กับ coumarin (coumarin moiety)

He, Lili *et al*. (2011) ได้แสดงให้เห็นว่า ZnO nanoparticles ที่มีขนาดอนุภาค 70 $\pm$ 15 nm สามารถต้านเชื้อราที่เกิดกับผลผลิตหลังการเก็บเกี่ยว 2 ชนิด คือ *Botrytis cinerea* และ *Penicillium expasum* ได้ดี และนอกจากนี้ยังพบว่า ZnO nanoparticles มีสมบัติในการออกฤทธิ์เป็นแบบ concentration dependence (คือความเข้มข้นเพิ่มขึ้นฤทธิ์การต้านเชื้อราเพิ่มขึ้น) อีกด้วย โดยกลไกการออกฤทธิ์ของ ZnO คือสามารถช่วยให้เกิดการสร้างสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ที่บริเวณผิวหน้าของ ZnO ที่ได้รับแสง จะเกิด electron hole pairs (e^- - h^+) แล้วรูนี้ก็จะปลอดปล่อยน้ำออกมา จากนั้นโมเลกุลของน้ำจะแตกตัวเป็น OH^- และ H^+ แล้วเข้าทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนไอออนต่อไปได้ H_2O_2 จากนั้น H_2O_2 นี้จะเข้าสู่ cell membrane และทำให้เชื้อราตายในที่สุด

Smid, Eddy J., et al. (1995) ได้นำสารสกัดจากสมุนไพรชนิดต่างๆ รวม 15 ชนิด มาทดสอบการต้านเชื้อรา *Penicillium hirsutum* ของดอกทิวลิป (Tulip) พบว่า เมื่อจุ่มดอกทิวลิปลงไปในสารละลายของซินนามาลดีไฮด์ เข้มข้น 3.9 mM สามารถลดเชื้อราลงได้ 40 เท่า นอกจากนั้นสารละลายดังกล่าวยังรักษาคุณภาพของดอกไม้ได้ดีอีกด้วย

นอกจากนั้นยังพบว่า กลไกการออกฤทธิ์โดยสมุนไพรเข้าไปรบกวนกระบวนการสังเคราะห์ cell wall และ ทำลาย cell wall ด้วยการทำให้เกิดอนุมูลอิสระ (Interference of fungal cell wall and cell wall destruction plus radical scavenging effect)

จากข้อมูลข้างต้นจะเห็นได้ว่า ผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติมีฤทธิ์ทางชีวภาพอย่างกว้างขวาง (Broad spectrum) ทั้งการต้านมะเร็ง ต้านแบคทีเรีย ต้านเชื้อราที่ก่อโรคในมนุษย์ สัตว์ และพืช ซึ่งสอดคล้องกับการสังเคราะห์ยาในระดับนาโนเทคโนโลยีที่คณะผู้วิจัยเน้นการทดลองการต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในมนุษย์ ตัวยาที่ได้จากการสังเคราะห์ในระดับอนุภาคนาโนเทคโนโลยีที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้จะทำให้เซลล์ของเชื้อแบคทีเรียตายโดยรบกวนการทำงานของ DNA Gyrase และ Topoisomerase enzyme ทำให้ DNA ไม่สามารถดำเนินกิจกรรมสำคัญต่อการดำรงชีวิต เช่น การซ่อมแซม หรือการจำลองตัวเอง (Replication หรือ

transcription) ได้ นอกจากนั้นอนุภาคของโลหะยังสามารถเข้าสู่ Haber-Weiss cycle หรือ Fenton reaction เพื่อผลิต ROS (reactive oxygen species) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ของเชื้อโรค และนักวิจัยยังได้นำอนุภาคนาโนเหล่านี้ไปศึกษาสมบัติทางกายภาพ ทางเคมี และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ จากผลงานวิจัยของกลุ่มต่างๆ ดังกล่าว รวมทั้งของกลุ่มคณะผู้วิจัยเองที่ได้ดำเนินการวิจัยเกี่ยวกับการออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ทั้งโรคกลับซ้ำ และโรคอุบัติใหม่ที่เกิดขึ้นในมนุษย์ จึงทำให้ทีมงานมีความสนใจที่จะนำความรู้ที่ได้เพื่อเป็นข้อมูลบางส่วนไปใช้ในการผลิตยากับหน่วยงานเภสัชศาสตร์เพื่อให้ได้ตัวยาที่มีประสิทธิภาพและมีการออกฤทธิ์ทางยาที่ดียิ่งขึ้น

บทที่ 3
สารเคมี อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

ในบทที่ 3 คณะผู้วิจัยขอนำเสนอข้อมูลตามลำดับหัวข้อดังนี้

1. สารเคมี อุปกรณ์และเครื่องมือ
2. การสังเคราะห์ (Synthesis)
3. การเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง SEM
4. การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่าง
5. การทดสอบความสามารถในการต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย
6. การศึกษาฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรีย

3.1 สารเคมี อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.1.1 สารเคมี

3.1.1.1 Dimethy glyoxime, Riedel De Haen.

3.1.1.2 1,10 – Phenanthroline Hydratf, Ajax Chemicals, Australia.

3.1.1.3 Brain heart infusion gar, Himedia Laboratories, India.

3.1.1.4 Copper (II) chloride dihydrate

3.1.1.5 Dimethyl Sulphoxide, Rcl Lab Scan, Thailand

3.1.1.6 Methanol, BDH Laboratory Supplies Pools, England.

3.1.1.7 Ferrous chloride tetrahydrate, Fluka, Germany.

3.1.1.8 Ferric chloride anhydrous, Fluka Chemica, Germany.

3.1.1.9 Acetonitrile

3.1.1.10 Alcohol, The United Drug, Thailand

3.1.2 อุปกรณ์

3.1.2.1 stirrer, Jenway Ltd., Essex, United Kingdom.

3.1.2.2 UV spectrophotometer, Parmacia Biotech

3.1.2.3 เครื่องวัดดูดกลืนแสง (Absorbvance)

3.1.2.4 ขวดแก้วก้นกลม ขนาด 100 ml.

3.1.2.5 ขวดวัดปริมาตร ขนาด 10 , 50 และ 100

3.1.2.6 บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 50, 100, 250, 500 และ 1000 mL, Pyrex, Germany.

3.1.2.7 กระบอกตวง ขนาด 10 และ 1000 ml.

3.1.2.8 เปเปอร์ดิสก์

3.1.2.9 ขวดชมพู่ ขนาด 100 และ 200 ml.

3.1.2.10 เพลตเลี้ยงเชื้อ Plate for bacterium growth, Pyrex, Germany.

3.1.2.11 กระดาษฟรอย

3.1.2.12 แท่งแก้วคนสาร

3.1.2.13 ช้อนตักสาร

3.1.2.14 ปิเปต Pipetman, Gilson Medical Electronics, France.

3.1.2.15 กระดาษกรอง เบอร์1

3.1.2.16 Autoclave. Hirayama, Scientific promotion Co., LTD.

3.1.2.17 Hotplate, Jenway Ltd., Essex, United Kingdom.

3.1.2.18 Water bath

3.1.2.19 เครื่องชั่ง

3.1.2.20 กระจกนาฬิกา

3.1.2.21 ขวดสีชา

3.1.2.22 เครื่องเขย่า

3.1.2.23 กระบอกใส่สาร

3.1.2.24 Lamina air flow, Jafelab

3.1.2.25 Spectronic 20 genesis, Spectronic Instruments, USA.

3.2. การสังเคราะห์ (Synthesis)

3.2.1 การสังเคราะห์ C1 (Dimethyl glyoxime + $CuCl_2$ + Phenanthroline hydrate)

ละลายสาร Dimethyl glyoxime 1 mol ใน Alcohol (10 ml) แล้วเติม $CuCl_2$ 1 mol จะได้สารละลายที่มีสีเขียวเข้ม เติม Acetonitrile (20 ml) จากนั้นเติม Phenanthroline hydrate 1 mol ปรับความเร็วในเครื่องกวน (Megnetric stirrer) จากนั้นจะได้สารละลายที่มีสีเขียวใส ใช้เวลาในการกวน 3 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาที่กำหนด พบว่า สารเกิดการตกตะกอน จึงกรองสารด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 แล้วเก็บไว้ในอุณหภูมิห้อง 3 วัน จึงเก็บสารตัวอย่างไว้ใน Vacuum

3.2.2 การสังเคราะห์ C2 (Dimethyl glyoxime + $FeCl_3$ + Phenanthroline hydrate)

ละลายสาร Dimethyl glyoxime 1 mol ใน Alcohol (10 ml) แล้วเติม $FeCl_3$ 1 mol จะได้สารละลายที่มีสีเหลืองอ่อน เติม Phenanthroline hydrate 1 mol ปรับความเร็วในเครื่องกวน จากนั้นจะได้สารละลายที่มีสีแดงแกมส้ม ใช้เวลาในการกวน 3 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาที่กำหนด พบว่าสารเกิดการละลายในตัวทำละลายเป็นอย่างดี จึงในสารประกอบที่ได้ไประเหยแห้งทิ้งไว้ 2 วัน จึงเก็บสารตัวอย่าง

3.2.3 **การสังเคราะห์** C3 (Dimethyl glyoxime + $NiCl_2$ + Phenanthroline hydrate)

ละลายสาร Dimethyl glyoxime 1 mol ใน Alcohol (10 ml) แล้วเติม $NiCl_2$ 1 mol จะได้สารละลายที่มีสีเหลืองอ่อน เติม Phenanthroline hydrate 1 mol ปรับความเร็วในเครื่องกวน จากนั้นจะได้สารละลายที่มีสีแดงแกมส้ม ใช้เวลาในการกวน 3 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาที่กำหนด พบว่า สารเกิดการละลายในตัวทำละลายเป็นอย่างดี จึงในสารประกอบที่ได้ไประเหยแห้งทิ้งไว้ 2 วัน จึงเก็บสารตัวอย่าง

3.3 การเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง SEM

3.3.1 ติดตัวอย่างบนแท่นวางตัวอย่าง (stub) ด้วยเทปกาวสองหน้า

3.3.2 นำตัวอย่างไปฉาบทองด้วยเครื่อง Ion sputter (ยี่ห้อ Balzers, model SCD 040

3.3.3 นำไปส่องดูด้วย SEM (ยี่ห้อ JEOL, model JSM-6400)

3.4 การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่าง

3.4.1 การเตรียมสารละลายเพื่อทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay

1. เตรียมสารละลายตัวอย่าง โดยการชั่งสาร 0.0100 g ใส่ขวดวัดปริมาตร 100 ml ละลายด้วย Methanol จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 100 ml

2. ชั่ง DPPH 0.0040 g ใส่ลงในขวดวัดปริมาตร 100 ml ละลายด้วย Methanol จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 100 ml

3. เตรียมขวดวัดปริมาตร 10 ml จำนวน 4 ขวด เตรียมเป็นความเข้มข้น 100 ppm, 80 ppm, 60 ppm, 40 ppm, ตามลำดับ และเตรียมขวดสีชา จำนวน 22 ใบ

4. ปิเปตสารละลายตัวอย่างใส่ขวดวัดปริมาตร 10 ml ทั้งหมด 7 ขวด ความเข้มข้นตามลำดับ (ถ้าความเข้มข้น 80 ppm ให้ปิเปต 8 ml แล้วเติม Methanol อีก 2 ml เพื่อปรับปริมาตรเป็น 10 ml)

5. เตรียมขวดสีชา 18 ขวด เพราะในแต่ละความเข้มข้นจะต้องมีขวดสีชา 3 ใบ หรือทดลอง 3 ซ้ำ เช่น ถ้าความเข้มข้น 1000 ppm จะต้องมีขวด 3 ขวด ยกเว้นขวด control มีเพียงขวดเดียว และอีก 1 ขวด เป็นขวด control รวมเป็น 19 ขวด

6. นำขวดสีชา ทั้ง 19 ใบ ไปอบไว้ที่อุณหภูมิ 100 ^{0}C แล้วรอให้ขวดเย็น

3.4.2 วิธีการวิเคราะห์ความสามารถการต้านอนุมูลอิสระโดย วิธี DPPH assay

1. ปิเปต 0.5 ml ของสารละลายตัวอย่างในแต่ละความเข้มข้น ใส่ในขวดสีชา 3 ใบ เพื่อทำการทดสอบ 3 ครั้ง

2. ปิเปต Methanolic DPPH radical 0.5 ml ใส่ขวดสีชาในแต่ละความเข้มข้น

3. เขย่าให้สารเข้าด้วยกัน นำขวดทั้ง 22 ใบ ไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิ 37 ^{0}C

เป็นเวลา 30 นาที

4. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายด้วยเครื่อง SPECTRONIC 20 GENESYS ที่ความยาวคลื่น 520 nm โดยวัดจากความเข้มข้นต่ำไปยังความเข้มข้นสูง

5. คำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์ Radical scavenging

3.4.3 การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric reducing antioxidant power assay (FRAP)

การเตรียมสารละลายเพื่อทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric reducing antioxidant power assay (FRAP) ทำได้ดังนี้

1. Acetate buffer (300 ml, pH 3.6) โดยชั่ง 3.1 g ของ Sodium acetate, glacial acetate acid 16 ml ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1 L ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 ^{0}C

2. Dilute HCl เป็น 40 mM โดยปิเปต 1.46 ml ของน้ำกลั่นผสมให้เข้ากันแล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

3. Ferric chloride มา 0.051 g ละลายโดยน้ำกลั่น 10 ml

4. TPTZ (2, 4, 6 – tri [2 – pyridyl] – s – triazine) 10 ml, 0.031 g ละลายใน HCl 40 mM จากนั้นละลายใน Water bath ที่อุณหภูมิ 50 ^{0}C (เตรียมใหม่ทุกครั้งเวลาใช้)

5. การเตรียมสารละลาย FRAP reagent โดยการนำสารละลาย Acetate buffer, Ferric chloride และ TPTZ ในปริมาตร 100 ml, 50 ml, 10 ml ตามลำดับ ผสมให้เข้ากันใน Water bath ที่อุณหภูมิ 37 ^{0}C

3.4.4 วิธีการวิเคราะห์ความสามารถการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric reducing antioxidant power assay (FRAP)

1. ปิเปตสารตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นต่าง ๆ และสารละลายมาตรฐานปริมาตร 150 µl ใส่ในขวดสีชาที่เตรียมไว้ในแต่ละความเข้มข้น แล้วเตรียมสารละลาย FRAP ปริมาตร 3 ml เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 ^{0}C เวลา 6 นาที

2. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm

3. นำค่าที่ได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm ไปเทียบกับกราฟมาตรฐานที่สร้างจากความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น Iron(II)sulfate solution กับค่าการดูดกลืนแสง

3.4.5 การสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลาย Ferrous sulfate

เตรียมสารละลาย Ferrous sulfate ที่ความเข้มข้น 1 mM โดยชั่ง $FeSO_4 .7H_2O$ จำนวน0.0279 g ละลายด้วยน้ำกลั่น 10 ml จากนั้นทำการเจือจางสารละลาย (Dilution) เป็นความเข้มข้นต่างๆ ตามลำดับ เพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน ดังตาราง

ตารางที่ 3.1 แสดงการเจือจางสารละลายในการทำกราฟมาตรฐาน

Standard concentration (ppm)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm	Standard concentration (ppm)
0.0	0.000	0.0
0.1	0.012	0.1
0.2	0.014	0.2
0.4	0.020	0.4
0.6	0.027	0.6

นำสารละลาย Ferrous(II)sulphate ในแต่ละความเข้มข้นที่เตรียมไว้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐานเทียบความเข้มข้น

3.5 การทดสอบความสามารถในการต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

3.5.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อ

1. Hotplate
2. Erlenmeyer flask ขนาด 250 ml
3. Plate
4. เครื่อง Lamina air flow
5. ตะเกียงแอลกอฮอล์
6. สาร PDA (Potato dextrose agar)
7. แท่งแก้ว
8. ช้อน
9. น้ำกลั่นปริมาตร 500 ml
10. เครื่อง autoclave
12. แอลกอฮอล์ทั้งเมทานอลและเอทานอล

3.5.2 วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

1. ชั่ง Brain heart infusion agar
2. ละลายและทำให้สุกด้วยความร้อนบน Hot plate
3. นำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 ^{0}C เป็นเวลา 20 นาที
4. นำอาหารไปเทใส่ Plate (จานเพาะเชื้อ) ที่เครื่อง Laminar flow

3.5.3 เชื้อที่นำมาใช้ในการทดสอบฤทธิ์

1. *Escherichia coli*
2. *Bacillus cereus*
3. *Salmonella*
4. *Staphylococcus aureus*

3.5.4 ขั้นตอนการเขี่ยเชื้อ

1. เผา loop รอให้ loop เย็น จากนั้นใช้ loop ที่เขี่ยเชื้อมาเตะที่ผิววุ้นใกล้ๆ ของจานเพาะเชื้อ ลาก loop เบาๆ โดยใช้ด้านแบนของปลาย loop แตะผิวเบาๆ บนผิววุ้นไปมา 4-5 ครั้ง ระวังอย่าให้ loop ฝังลงในวุ้น ปิดฝาจานเพาะเชื้อ

2. ขีดเชื้อแบบ Streak plate ทำการขีดครั้งที่ 2 โดยใช้ loop เขี่ยเชื้อผ่านเชื้อที่แตะไว้ครั้งแรก ลากไปมา 5-6 ครั้ง ขีดครั้งที่ 3 โดยการหมุนจานเล็กน้อยให้เหมาะและการขีดครั้งที่ 4 ให้ลาก loop ไปมา 2-3 ครั้ง

3.6 การศึกษาฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรีย

3.6.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1. Plate
2. Cotton buds
3. Paper disk
4. ตะเกียงแอลกอฮอล์
5. แอลกอฮอล์
6. Erlenmeyer flask
7. สารตัวอย่างที่สังเคราะห์ได้ คือ C1, C2 และ C3
8. Control คือ DMSO และ Methanol

3.6.2 วิธีการศึกษาการต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

1. นำอาหารที่เตรียมไว้มาอุ่นบน Hot plate

2. นำเชื้อที่เตรียมไว้เกลี่ยบน Hot plate ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้ออยู่ โดยใช้ Cotton bud ที่ฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave แล้วนาน 15 นาที

3. เตรียมสารตัวอย่างโดยชั่ง C1, C2 และ C3 0.02 g ปรับปริมาตรด้วย DMSO (Dimethyl sulfoxide) และ Methanol

4. ปิเปตสารตัวอย่างใส่ลงขวดวัดปริมาตรขนาด 10 ml ที่ความเข้มข้นดังต่อไปนี้

ความเข้มข้น 0.618 molar ปิเปต 5 ml ปรับปริมาตรเป็น 10 ml

ความเข้มข้น 0.825 molar ปิเปต 5 ml ปรับปริมาตรเป็น 10 ml

ความเข้มข้น 1.031 molar ปิเปต 5 ml ปรับปริมาตรเป็น 10 ml

5. นำ Paper disk วางบนแผ่นกระจกสี่เหลี่ยมแต่ละความเข้มข้น แล้วปิเปตสารละลายตัวอย่าง 20 µl ลงบน Paper disk ในแต่ละความเข้มข้น แล้วนำ Paper disk เก็บไว้ในที่มืดและที่มีแสงสว่าง เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำมาวางบนเชื้อที่เตรียมไว้ข้างต้นตามความเข้มข้นที่กำหนดไว้ใน ข้อที่ 4

6. นำเชื้อไปบ่มที่ตู้บ่มเชื้อ ในกรณีของแบคทีเรียใช้อุณหภูมิ 35 ^{0}C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

7. วัด Clear zone และบันทึกผล

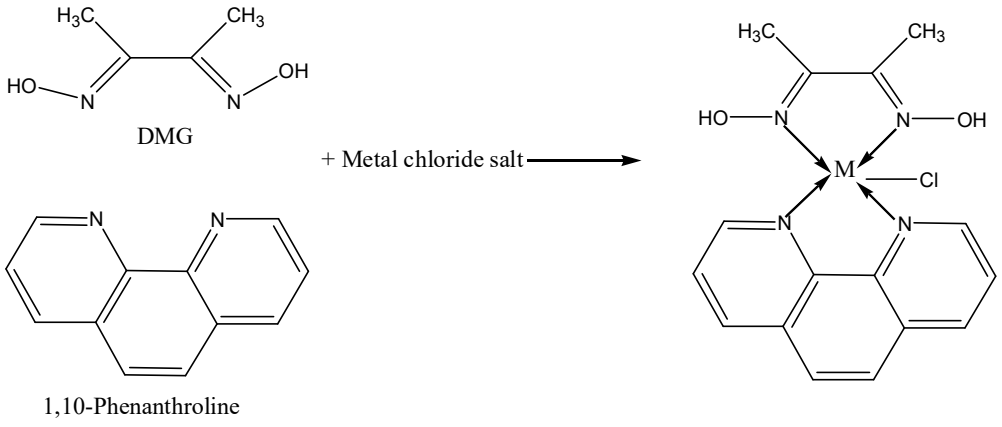
บทที่ 4
ผลการทดลอง

ในบทนี้คณะผู้วิจัยได้เก็บรวบรวมข้อมูลที่สำคัญในด้านต่าง ๆ จากการทดลองดังนี้

1. ผลการสังเคราะห์สารตัวอย่าง
2. ผลการศึกษาสมบัติทางเคมีฟิสิกส์
3. ผลการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารแต่ละชนิด
4. ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH
5. ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP
6. ผลการทดสอบความสามารถในการต้านแบคทีเรีย

4.1 ผลการสังเคราะห์สารตัวอย่าง

ทำการสังเคราะห์อนุภาคนาโนโลหะโดยเทคนิคทางเคมีที่มีลิแกนด์หลักเป็น Dimethyl glyoxime ลิแกนด์ช่วยเป็น Phenanthroline ใน Alcoholic medium ที่อุณหภูมิ 40 ^{0}C ด้วยวิธีคนสารละลายอย่างต่อเนื่อง



ภาพที่ 4.1 กระบวนการสังเคราะห์และโครงสร้างการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Dimethyl glyoxime metal nanoparticles

4.2 ผลการศึกษาสมบัติทางเคมีฟิสิกส์

สมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ที่สำคัญของสารประกอบ ทั้งที่เป็นลิแกนด์ ได้แก่ Dimethyl glyoxime ซึ่งกำหนดให้เป็น L1 และสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างลิแกนด์เหล่านี้กับ Cu, Fe และ Ni ได้แก่ C1, C2 และ C3 สารประกอบที่สังเคราะห์ได้จะมีสี สูตรโมเลกุล จุดหลอมเหลว เปอร์เซ็นต์ของธาตุองค์ประกอบ และเปอร์เซ็นต์ของผลิตภัณฑ์แตกต่างกัน ดังรายละเอียดในตารางที่ 4.1 และ 4.2 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.1 สมบัติทางกายภาพของสารที่สังเคราะห์ได้

Trivial name	code	สูตรโมเลกุล	จุดหลอมเหลว (^{0}C)	สีของสาร	ตัวทำละลาย
DMG	L1	$C_4H_8N_2O_2$	242.4	สีขาวใส	Methanol
DMG-Cu-Phen	C1	$[C_{16}H_{16}N_4O_2(CuCl_2)]$	345.1	สีเขียวใส	DMSO
DMG-Fe-Phen	C2	$[C_{16}H_{16}N_4O_2(FeCl_3)]$	332.4	สีดำ	Methanol
DMG-Ni-Phen	C3	$[C_{16}H_{16}N_4O_2(NiCl_3)]$	320.2	สีชมพู	Methanol

จากตารางที่ 4.1 ศึกษาสมบัติทางกายภาพของสารที่สังเคราะห์ได้ ซึ่งสารที่สังเคราะห์ได้มีทั้งหมด 4 ชนิด ซึ่งกำหนดเป็นรหัสดังต่อไปนี้ คือ สาร L1 ซึ่งเป็นลิแกนด์ที่ได้จากการสังเคราะห์ DMG เมื่อนำสาร L1 มาคอนจูเกตกับโลหะ Cu, Fe และ Ni จะได้สารผลิตภัณฑ์จำนวน 3 ชนิด ซึ่งกำหนดให้เป็นสาร C1, C2 และ C3 ซึ่งจุดหลอมเหลว สีของสาร และสมบัติการละลายในตัวทำละลาย จะมีรายละเอียดดังตารางที่ 4.2

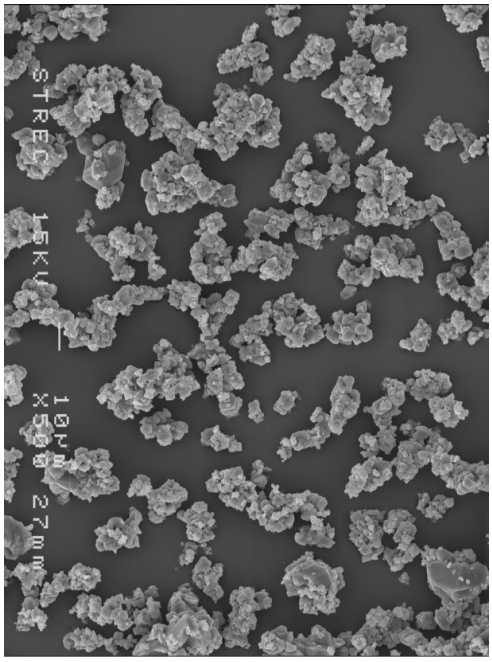
ตารางที่ 4.2 มวลโมเลกุล และ Elemental analysis ของสารที่ได้จากการสังเคราะห์

Code	% yield	MW	% C		% H		% N		% O	
			Calc.	Found	Calc.	Found	Calc.	Found	Calc.	Found
L1	75.89	116.00	41.38	41.20	6.89	6.58	24.13	24.16	27.58	27.62
C1	78.82	466.48	41.16	41.32	3.43	3.56	12.00	12.20	6.86	6.90
C2	81.11	566.30	33.90	33.86	2.82	2.80	9.88	9.78	5.65	5.75
C3	55.01	533.71	35.97	36.10	2.99	3.00	10.49	10.53	5.99	6.00

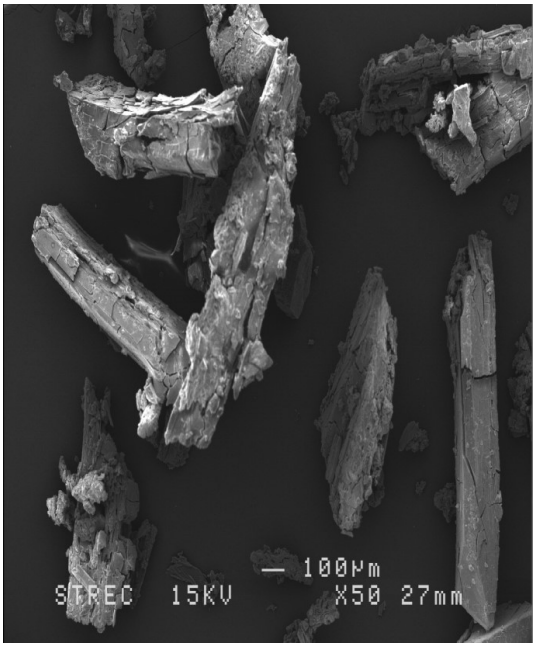
จากตารางที่ 4.2 ผลการศึกษามวลโมเลกุล และ Elemental analysis ของสารที่ได้จากการสังเคราะห์ เมื่อทำการสังเคราะห์แล้วนำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาคำนวณหา ค่า ผลผลิตร้อยละ (% yield) จะพบว่าสารตัวอย่างจะมีค่าผลผลิตร้อยละมากกว่า 50 % ขึ้นไปทุกชนิดและสารที่มีค่าผลผลิตร้อยละมากที่สุดคือสาร C2 เมื่อพิจารณาผลจากตารางแล้วนั้นจะพบว่าสารแต่ละชนิดไม่มีสารใดที่มีค่าผลผลิตร้อยละถึง 100 % อาจเนื่องมาจากขั้นตอนการเก็บสารตัวอย่างสารอาจมีการระเหยและสูญเสียไปกับตัวจึงทำให้ค่าผลผลิตร้อยละไม่ถึง 100 % และนอกจากนี้เมื่อพิจารณาก็จะพบว่าสารตัวอย่างทั้ง 4 ชนิดจะมีมวลโมเลกุลและธาตุองค์ประกอบที่แตกต่างกันก็เนื่องจากว่าสารทั้ง 4 ชนิดเป็นสารต่างชนิดกัน

4.3 ผลการทดสอบทางมอร์โฟโลกี

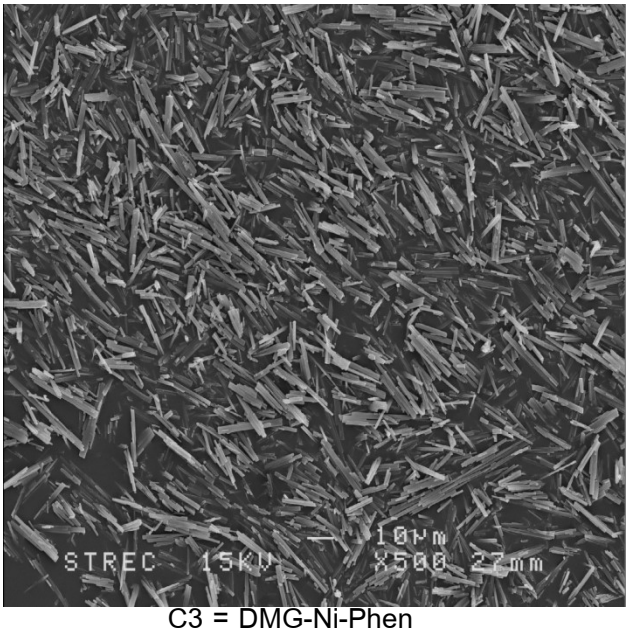
ลักษณะอนุภาคนาโนที่ได้จาก SEM (Scanning Electron Microscope)



C1 = DMG-Cu-Phen



C2 =DMG-Fe-Phen



C3 = DMG-Ni-Phen

ภาพที่ 4.2 ลักษณะทางมอร์โฟโลกีของ C1, C2 และ C3 จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิด SEM

จากภาพจะเห็นว่า C1 หรือ DMG-Cu-Phen ขนาดอนุภาคเฉลี่ย 80 nm มีลักษณะอนุภาคเป็นแบบทรงกลม อยู่รวมกันเป็นกลุ่มกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ ส่วน C2 (DMG-Fe-Phen) มีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 692 nm และ C3 (DMG-Ni-Phen) มีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 69 nm มีลักษณะรูปเข็ม โดยเฉพาะอนุภาค C3 มีขนาดเล็กและสม่ำเสมอ

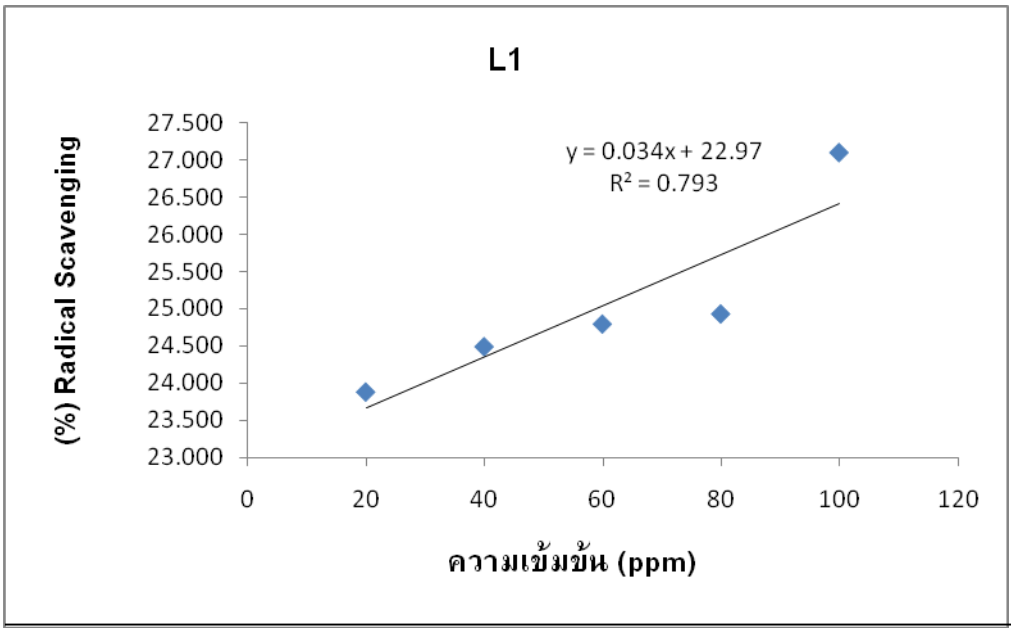
4.4 ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH

ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่าง โดยวิธี DPPH แสดงเป็นเปอร์เซ็นต์การจับอนุมูลอิสระ (% Scavenging effect) เป็นผลมาจากการทำปฏิกิริยาระหว่างสารละลาย DPPH กับสารสังเคราะห์ โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ λ_{max} 520 nm ซึ่งเป็นค่า Wavelength ที่สารละลาย DPPH สามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุด ดังนั้นค่าการดูดกลืนแสงของสาร DPPH เปลี่ยนไปแสดงว่า สารมีสมบัติเป็นแอนติออกซิแดนต์โดยการเข้าทำปฏิกิริยากับสารละลาย DPPH โดย DPPH free radical ได้รับอิเล็กตรอนหรืออะตอมอิสระต่อไป ซึ่งสามารถสังเกตได้จากค่าการดูดกลืนแสงที่ λ_{max} 520 nm จะลดลง แล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนไปซึ่งมีค่าเท่ากับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.3

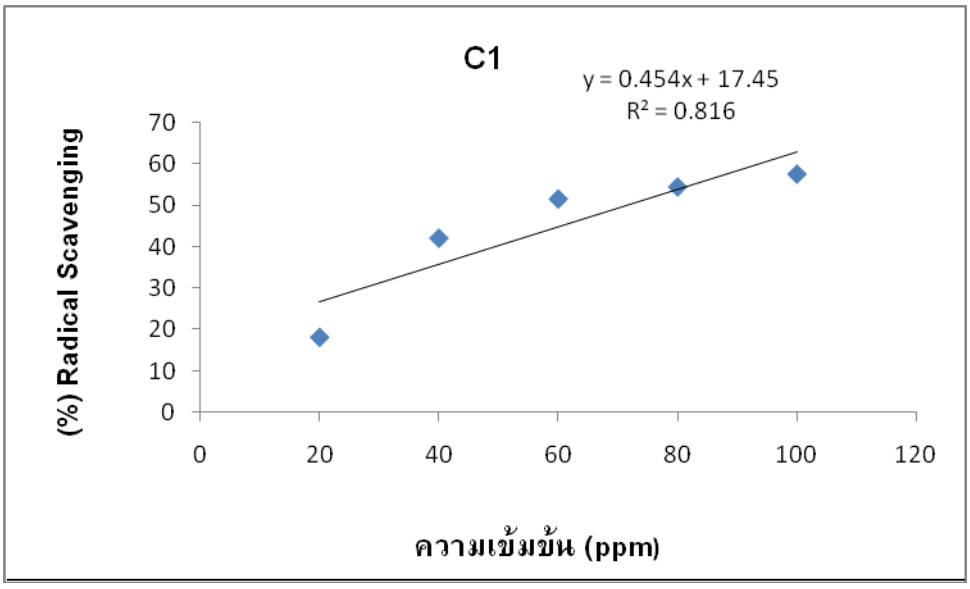
ตารางที่ 4.3 ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH

ชนิดของสาร	ความเข้มข้น (ppm)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 nm			x ± SD	Radical Scavenging activity (%)
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		
L1	100	0.739	0.699	0.714	0.717±0.020	27.100
	80	0.732	0.736	0.748	0.739±0.008	24.932
	60	0.747	0.748	0.734	0.743±0.008	24.491
	40	0.751	0.735	0.734	0.740±0.010	24.796
	20	0.751	0.744	0.752	0.749±0.004	23.882
C1	100	0.277	0.274	0.152	0.234±0.071	57.471
	80	0.242	0.266	0.246	0.251±0.013	54.385
	60	0.272	0.257	0.273	0.267±0.009	51.482
	40	0.266	0.264	0. 428	0.319±0.094	42.044
	20	0.842	0.253	0.257	0.451±0.339	18.209
C2	100	0.407	0.365	0.424	0.399±0.030	41.715
	80	0.405	0.452	0.406	0.421±0.027	38.450
	60	0.414	0.407	0.509	0.443±0.057	35.185
	40	0.508	0.753	0.399	0.553±0.181	19.103
	20	0.702	0.393	0.866	0.654±0.240	4.434
C3	100	0.743	0.738	0.733	0.738±0.005	25.000
	80	0.736	0.775	0.770	0.760±0.021	22.730
	60	0.818	0.829	0.825	0.824±0.006	16.260
	40	0.874	0.872	0.872	0.873±0.001	11.314
	20	o.917	0.912	0.903	0.911±0.007	7.452

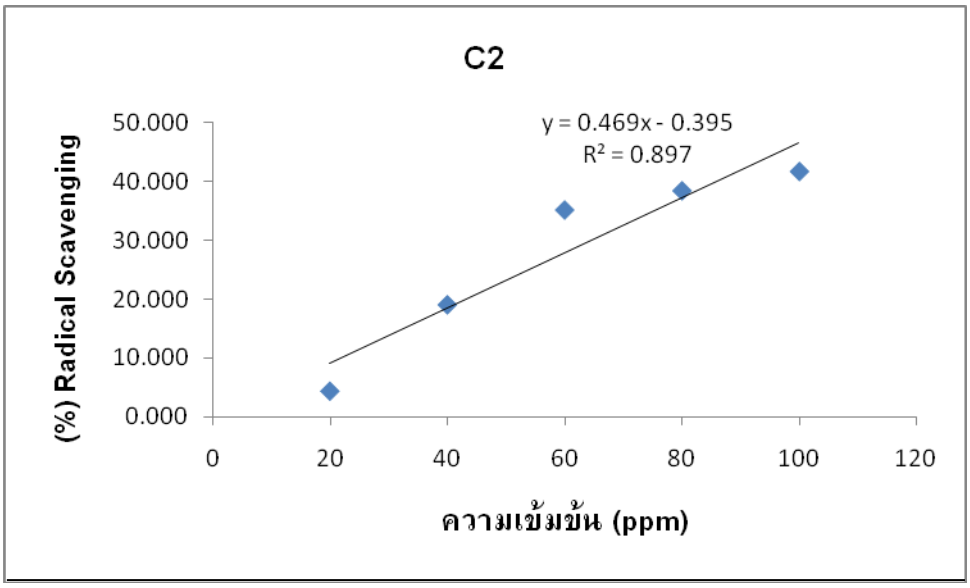
จากตารางที่ 4.3 พบว่า สารทั้งหมดออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ในเปอร์เซ็นต์ที่สูง โดยเฉพาะ C1 (DMG-Cu-phen) เป็นสารที่มีฤทธิ์สูงสุดและเมื่อความเข้มข้นของสารตัวอย่างเพิ่มขึ้น ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระก็จะเพิ่มขึ้น (Concentration dependence antioxidant activity) เมื่อนำค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมาสร้างกราฟเปรียบเทียบกับความเข้มข้นจะได้กราฟเส้นตรงตามภาพที่ 4.2 - 4.4 ดังนี้



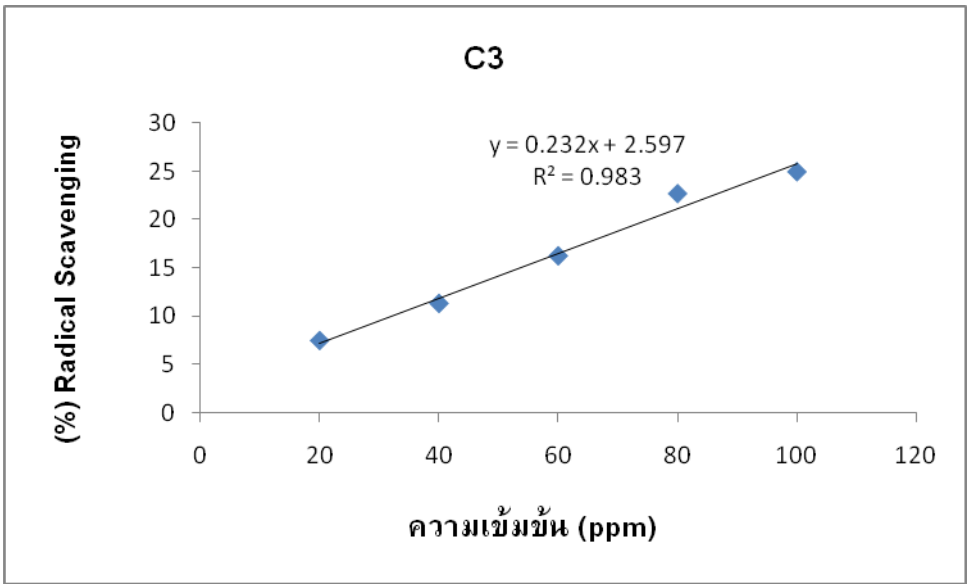
ภาพที่ 4.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง % Radical Scavenging กับความเข้มข้นของสาร L1



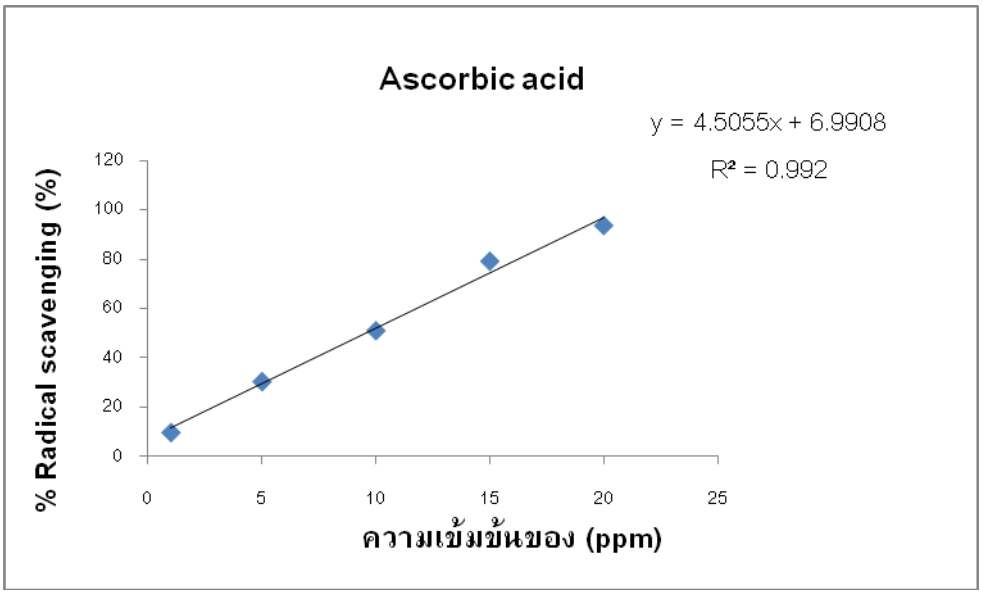
ภาพที่ 4.4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง % Radical Scavenging กับความเข้มข้นของสาร C1



ภาพที่ 4.5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง % Radical Scavenging กับความเข้มข้นของสาร C2



ภาพที่ 4.6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง % Radical Scavenging กับความเข้มข้นของสาร C3

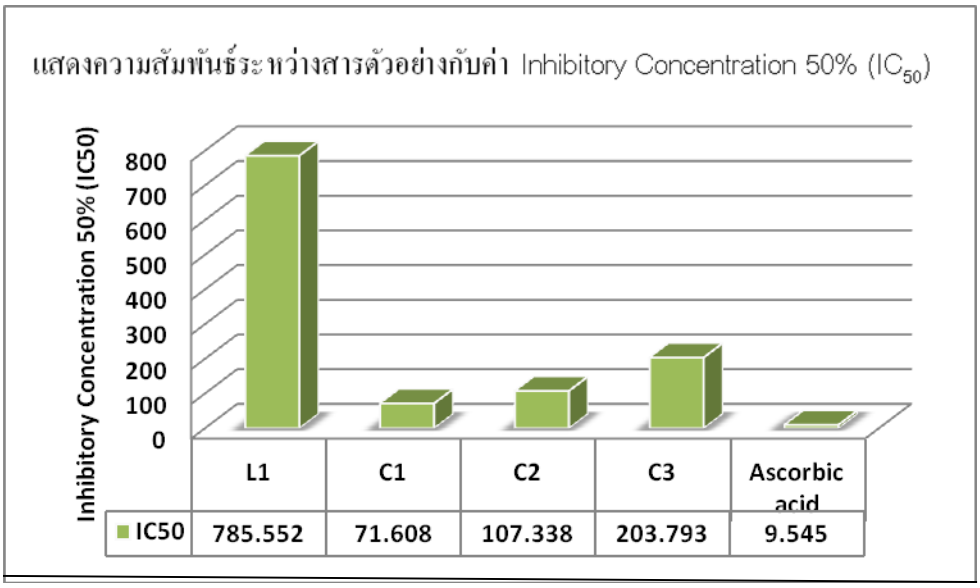


ภาพที่ 4.7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง % Radical Scavenging กับความเข้มข้นของสาร Ascorbic acid

จากภาพที่ 4.3 - 4.7 นำมาคำนวณหาค่า IC_{50} ซึ่งเป็นความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ลดลง 50% ได้ผลดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 แสดงค่า IC_{50} ของสารตัวอย่างในการต้านอนุมูลอิสระ

สารตัวอย่าง	IC_{50} (Inhibitory Concentration 50%)
L1	785.552
C1	71.608
C2	107.338
C3	203.793
Ascorbic acid	9.545



ภาพที่ 4.8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสารตัวอย่างกับค่า Inhibitory concentration 50% (IC_{50})

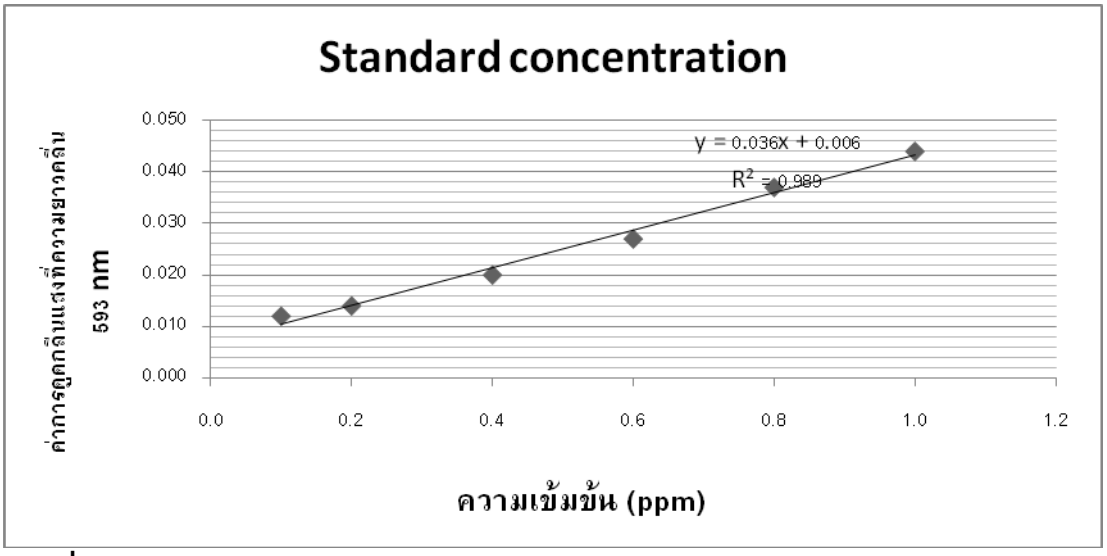
จะเห็นว่าลิแกนด์ (L1) มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระน้อย แต่เมื่อทำการคอนจูเกตกับลิแกนด์ช่วยและมีโลหะอยู่ด้วยประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระจะเพิ่มขึ้น ดังนั้น สารตัวอย่างหรืออนุภาคนาโนที่สังเคราะห์ได้ในครั้งนี้นอกจากจะออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคของมนุษย์ได้แล้ว ยังอาจป้องกันโรคอื่นๆ ได้อีกด้วย โดยเฉพาะโรคที่มีสาเหตุมาจากอนุมูลอิสระ เช่น ความจำเสื่อม มะเร็ง เบาหวาน และชะลอความแก่อีกด้วย

4.5 ผลการทดสอบความสามารถในการต้านนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP

เมื่อนำสารละลาย Iron (II) sulphate ที่เตรียมเป็นความเข้มข้นต่าง ๆ เช่น 100, 80, 60, 40 และ 20 ppm ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm จะได้ค่าการดูดกลืนแสงดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 แสดงค่ามาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP

Standard concentration (ppm)	**ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm**
0.0	0.000
0.1	0.012
0.2	0.014
0.4	0.020
0.6	0.027
0.8	0.037
1.0	0.044



ภาพที่ 4.9 กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP

ตารางที่ 4.6 แสดงปริมาณของ Fe^{2+} ที่ได้จากการรีดิวซ์ Fe^{3+} โดยสารตัวอย่างในการวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP

ชนิดของสาร	ความเข้มข้น (ppm)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm			x ± SD	ปริมาณ Fe^{2+}
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		
L1	100	0.679	0.681	0.679	0.680±0.001	18.443
	80	0.667	0.667	0.669	0.668±0.001	18.115
	60	0.661	0.663	0.661	0.662±0.001	17.950
	40	0.653	0.652	0.652	0.652±0.001	17.676
	20	0.644	0.647	0.645	0.645±0.002	17.484
C1	100	0.842	0.253	0.257	0.451±0.339	12.136
	80	0.266	0.264	0. 428	0.319±0.094	8.530
	60	0.272	0.257	0.273	0.267±0.009	7.109
	40	0.242	0.266	0.246	0.251±0.013	6.672
	20	0.277	0.274	0.152	0.234±0.017	6.207

ตารางที่ 4.6 (ต่อ) แสดงปริมาณของ Fe^{2+} ที่ได้จากการรีดิวซ์ Fe^{3+} โดยสารตัวอย่างในการวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP

ชนิดของสาร	ความเข้มข้น (ppm)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm			x ± SD	ปริมาณ Fe^{2+}
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		
C2	100	0.702	0.393	0.866	0.654±0.240	17.683
	80	0.508	0.753	0.399	0.553±0.181	14.923
	60	0.414	0.407	0.509	0.443±0.057	11.918
	40	0.405	0.452	0.406	0.421±0.027	11.316
	20	0.407	0.365	0.424	0.399±0.030	10.715
C3	100	0.661	0.661	0.662	0.661±0.001	17.923
	80	0.655	0.657	0.657	0.656±0.001	17.786
	60	0.649	0.649	0.654	0.651±0.003	17.649
	40	0.646	0.648	0.647	0.647±0.001	17.539
	20	0.644	0.644	0.643	0.644±0.001	17.457

จากตารางที่ 4.6 แสดงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP พบว่าสารแต่ละชนิดมีความสามารถในการรีดิวซ์ Fe^{3+} ไปเป็น Fe^{2+} เมื่อสารมีความเข้มข้นมากขึ้นความสามารถในการรีดิวซ์ Fe^{3+} ไปเป็น Fe^{2+} ได้มาก สารที่มีความสามารถสูงในการต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิคคือ L1 (Dimethyl glyoxime)

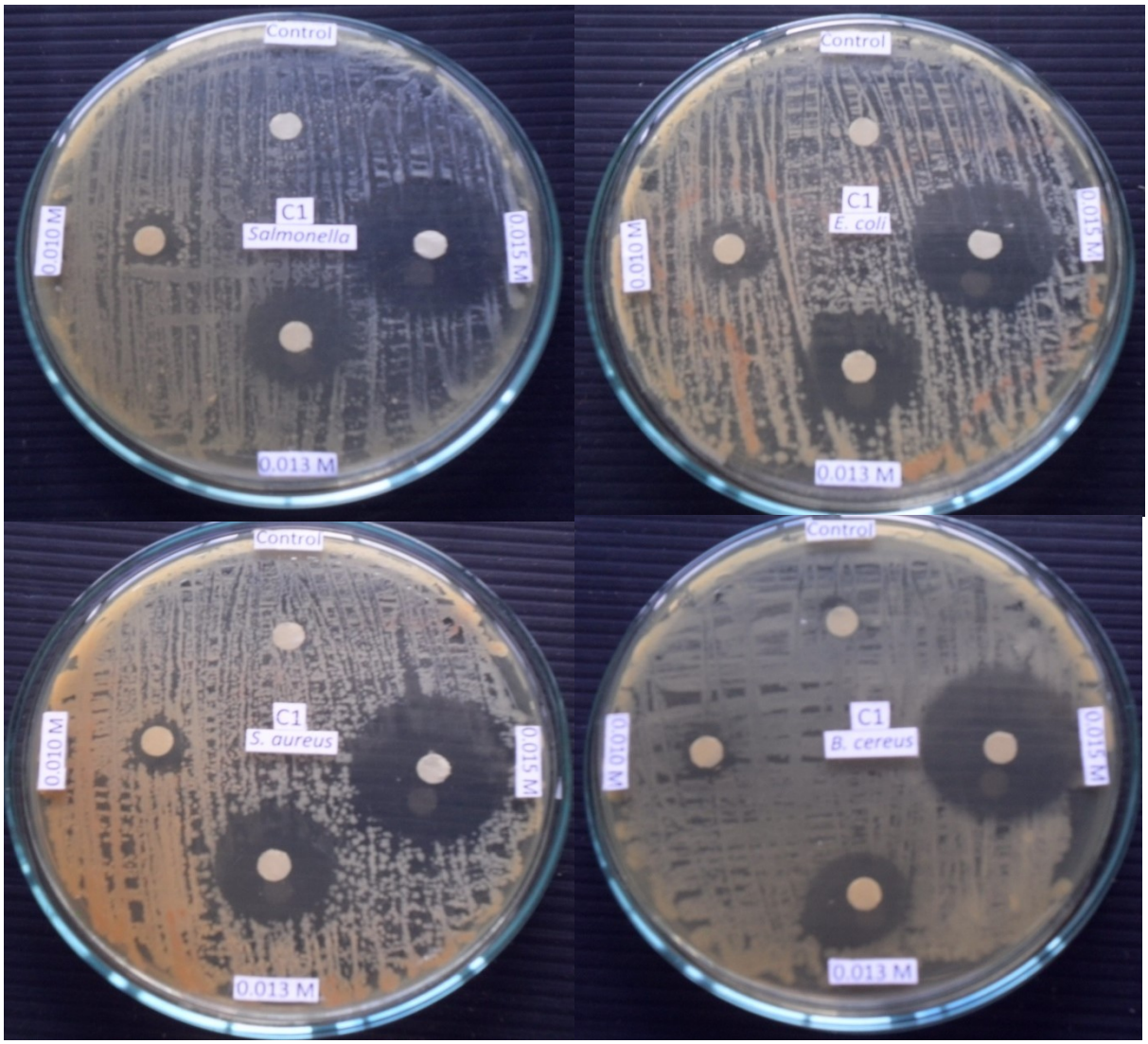
4.6 ผลการทดสอบความสามารถในการต้านแบคทีเรีย (Antibacterial activities)

เมื่อนำสารที่สังเคราะห์แต่ละชนิดมาเตรียมเป็นความเข้มข้นต่างๆ เช่น 0.015, 0.013 และ 0.010 M เพื่อทดสอบความสามารถในการต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรียจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ *B. cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* และ *E. coli* เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง สามารถวัด Clear zone ได้ผลดังตารางที่ 4.7

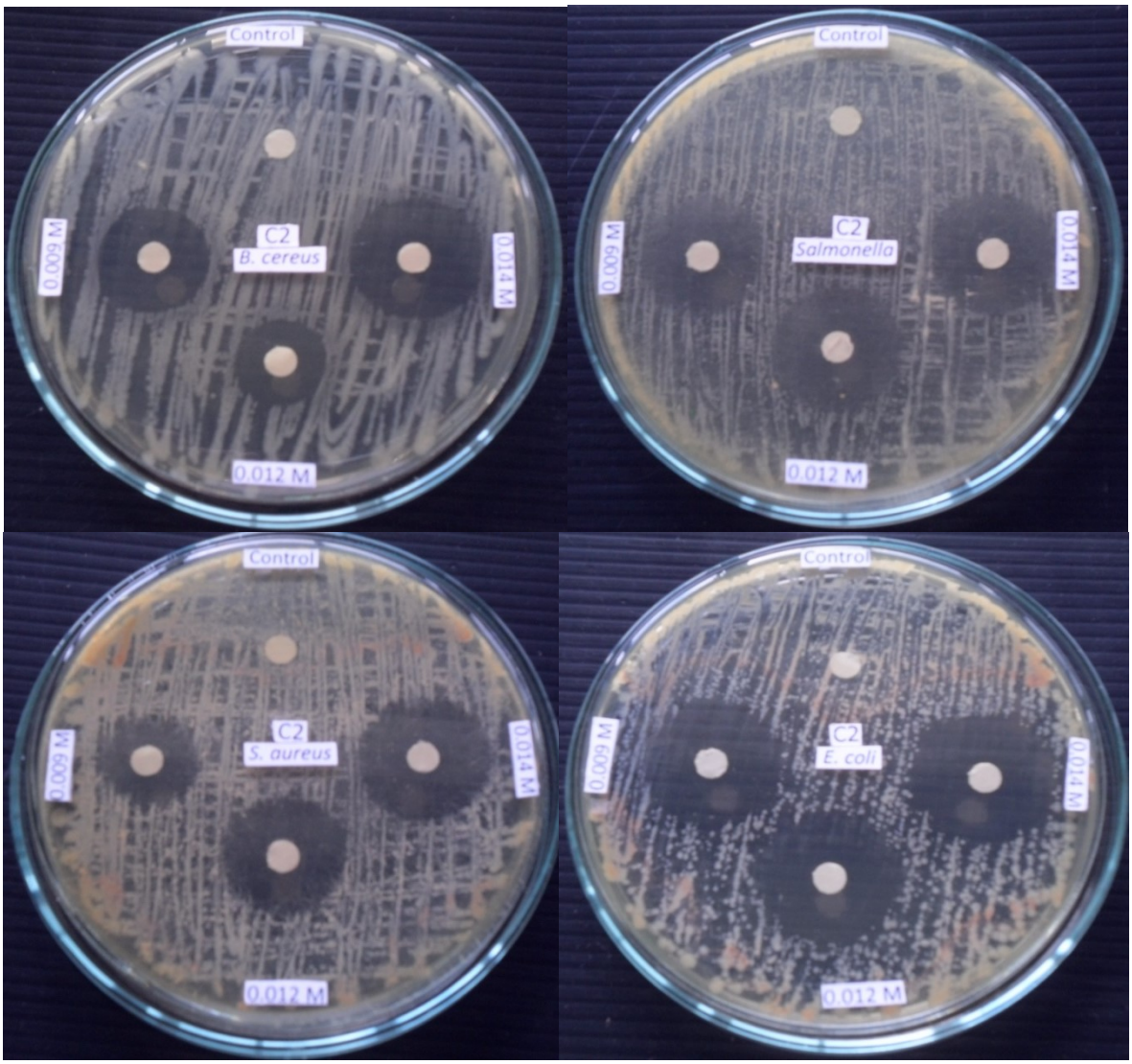
ตารางที่ 4.7 แสดงความสามารถของการออกฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย ด้วยเทคนิค *In vitro*

ชนิดสาร	ความเข้มข้น (Molar)	Clear zone (mm)			
		B. cereus	***S. aureus***	***Salmonella***	***E. coli***
L1	Control	-	-	-	-
	0.051	15	10	9	9
	0.025	12	9	9	8
	0.012	10	9	8	8
C1	Control	-	-	-	-
	0.015	27	30	25	25
	0.013	15	19	17	20
	0.010	9	11	10	12
C2	Control	-	-	-	-
	0.014	22	23	21	25
	0.012	15	21	20	24
	0.009	20	19	18	21
C3	Control	-	-	-	-
	0.011	15	10	12	11
	0.005	12	9	9	10
	0.002	9	8	8	10

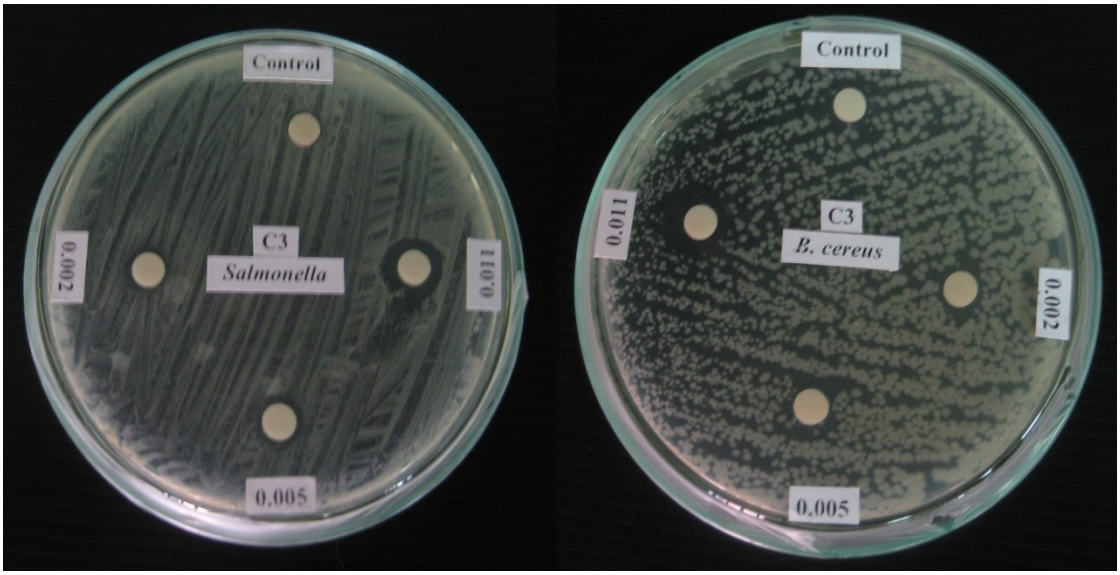
จากตารางที่ 4.7 พบว่าสารตัวอย่างแต่ละชนิดมีความสามารถในการต้านเชื้อแบคทีเรียได้แตกต่างกัน พบว่า สารแต่ละชนิดจะเริ่มต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ตั้งแต่ความเข้มข้นต่ำและเมื่อเพิ่มความเข้มข้นขึ้นก็จะต้านเชื้อแบคทีเรียได้มากยิ่งขึ้น ซึ่งวัดค่าการต้านเชื้อแบคทีเรียได้จากขนาดของวง Clear zone ที่สามารถมองเห็นได้อย่างชัดเจนด้วยตาเปล่า ซึ่งสารที่มีความสามารถต้านเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุดคือ สาร C1 และ C2 ออกฤทธิ์ได้ดีกว่า L1 และ C3



ภาพที่ 4.10 การต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรียของสารประกอบ C1



ภาพที่ 4.11 การต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรียของสารประกอบ C2



ภาพที่ 4.12 การต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรียของสารประกอบ C3

จากภาพที่ 4.10-4.12 พบว่าสารตัวอย่างสามารถต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแต่ละชนิดได้แตกต่างกันและสารตัวอย่างยังสามารถออกฤทธิ์ต้านการเติบโตของแบคทีเรียได้ทั้ง 3 ความเข้มข้นและจะมองเห็น Clear zone ได้อย่างชัดเจน โดยเฉพาะ C1 และ C2 สามารถต้านได้ดี ส่วน C3 ต้านได้ดีเฉพาะ *Salmonella* และ *B. cereus*

บทที่ 5
สรุป วิจารณ์ผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ

ในบทที่ 5 คณะผู้วิจัยได้สรุปประเด็นที่สำคัญจากผลการวิจัย ได้แก่ การสังเคราะห์อนุภาคนาโน การศึกษาสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ มอร์โฟโลกีของอนุภาคจากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ขนาดของอนุภาค ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์การต้านแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์ โดยขอนำเสนอตามลำดับหัวข้อดังนี้

1. สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง
2. ข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

อนุภาคนาโนที่สังเคราะห์ได้โดยใช้ Dimethyl glyoxime (DMG) เป็นตัวรีดิวซ์ (ลิแกนด์หลัก) และใช้ Phenanthroline เป็นลิแกนด์ช่วย (Auxiliary ligand) เพื่อเตรียมอนุภาคนาโนของทองแดง เหล็กและนิเกิล ได้ผลผลิตร้อยละของอนุภาคทั้งสามชนิดเท่ากับ 78.82, 81.11 และ 55.01 ตามลำดับ โดยอนุภาคทองแดงที่เตรียมมีลักษณะเป็นทรงกลมกระจ่ายตัวสม่ำเสมอ มีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 80 nm ส่วนอนุภาคของเหล็กมีขนาดใหญ่ (692 nm) รูปเข็ม ส่วนอนุภาคนิเกิลมีลักษณะรูปเข็ม ขนาด 69 nm กระจายตัวสม่ำเสมอ

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH พบว่า ทั้งลิแกนด์และอนุภาคนาโนที่เตรียมได้สามารถออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ทุกสาร แต่ประสิทธิภาพแตกต่างกัน โดยอนุภาคนาโนสามารถออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดี โดยเฉพาะ C1 (DMG-Cu-Phen) ออกฤทธิ์ได้สูงสุด รองลงมาคือ C2 (DMG-Fe-Phen) และ C3 (DMG-Ni-Phen) ตามลำดับ

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ FRAP พบว่า สารแต่ละชนิดมีความสามารถในการรีดิวซ์ Fe^{3+} ไปเป็น Fe^{2+} เมื่อสารมีความเข้มข้นมากขึ้นความสามารถในการรีดิวซ์ Fe^{3+} ไปเป็น Fe^{2+} ได้มาก สารที่มีความสามารถสูงในการต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิคคือ L1 (Dimethyl glyoxime)

สำหรับผลการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดในการต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค DPPH และเทคนิค FRAP ที่มีความสัมพันธ์กันน้อย ทั้งนี้เป็นเพราะว่า สารสกัดที่มีความสามารถในการรีดิวซ์เหล็กได้ดีอาจจะแสดงสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยการให้อะตอมไฮโดรเจนไม่ดี (โอภา วัชระคุปต์. 2549) นอกจากนี้ ยังขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลาย และขนาดของโมเลกุลของสารสกัดที่จะเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ (มัณฑนา ภาณุมาภรณ์. 2552) ดังนั้นการที่ลิแกนด์มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ $DPPH^{\cdot}$ ได้ดีเพราะมีความสามารถในการละลายน้ำได้ดี และโมเลกุลไม่เกะกะ (Steric effect) จึงเกิดปฏิกิริยารีดักชันได้ดี แต่มีความสามารถในการรีดิวซ์เหล็กได้น้อยในเทคนิค FRAP

ฤทธิ์การต้านแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์ พบว่า ทั้งอนุภาคนาโนออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (*B.* ***cereus***., *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* และ *E. coli*) ก่อโรคของมนุษย์ได้ดี โดยเฉพาะอนุภาค C1 และ C2 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการต้านแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด นอกจากนี้ อนุภาคทั้งหมดยังออกฤทธิ์แบบ Concentration dependence อีกด้วย

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ข้อเสนอแนะเพื่อการนำไปใช้

อนุภาคนาโนที่สังเคราะห์ได้ในครั้งนี้มีประโยชน์ต่อวงการเภสัช ที่จะนำไปพัฒนาต่อเพื่อเป็นผลิตภัณฑ์หรือเป็นยาต้านแบคทีเรียและใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

5.2.2 ข้อเสนอแนะเพื่อการวิจัยครั้งต่อไป

ควรมีการวิจัยถึงฤทธิ์ของอนุภาคทั้ง 3 ชนิด ต่อจุลินทรีย์ทั้งก่อโรคในมนุษย์ สัตว์ และพืชเศรษฐกิจอื่นๆ ต่อไป

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

โครงการสร้างความเข้าใจวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและนวัตกรรมแก่สาธารณชน. (2549). **ประโยชน์จากนาโนเทคโนโลยี.** ปทุมธานี : สำนักพัฒนาวิทยาศาสตร์แลเทคโนโลยีแห่งชาติ.

ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ. (2551). **เอกสารประกอบการเรียนรู้ หลักสูตรวัสดุนาโน**. กรุงเทพฯ : สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีแห่งชาติ.

โอภา วัชระคุปต์. (2550). **สารต้านอนุมูลอิสระ Radical scavenging agents**. 2nd edition. กรุงเทพฯ : นิวไทยมิตรการพิมพ์.

Al-Haiza, Mostafa, M.A. and El-kady, M.Y. (2003). "Synthesis and Biological Evaluation of Some New Coumarin Derivatives." **Molecules**. 8 : 275-286.

Das, Manash R., et al. (2011). "Synthesis of silver nanoparticles in an aqueous suspension of grapheme oxide sheets and its antimicrobial activity." **Colloids and Surfaces B : Biointerfaces**. 83 : 16-22.

DiSilvestro, Robert A., et al. (2005). "Soy isoflavone supplementation elevates erythrocyte superoxide dismutase, but not plasma ceruloplasmin in postmenopausal breast cancer survivors." **Breast Cancer Research and Treatment**. 89 : 251-255.

He, Lili, Liu, Yang, Mustapha, Azlin, and Lin, Mengshi. (2011). "Antifungal activity of zinc Oxide nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*." **Microbiological Research**. 166 : 207-215.

Hospital Based Cancer Registry. **Cancer Report**. (2012). ค้นเมื่อ 3 กรกฎาคม จาก 2555 www.ncrpindia.org/HBCR_website/index.aspx

Kostova, Irena et al. (2005). "Cytotoxic activity of new lanthanum (III) complexes of bis-coumarins." **European Journal of Medicinal Chemistry**. 40 : 542-551.

Smid, Eddy J., et al. (1995). "Secondary Plant metabolities as control agents of postharvest Penicillium rot on tulip bulbs." **Postharvest Biology and Technology**. 6 : 303-312.

ประวัตินักวิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมหมาย ปะติตังโข

ประวัตินักวิจัย

ดร.สมหมาย ปะติตังโข : หัวหน้าโครงการวิจัย

1. ตำแหน่งปัจจุบัน: ผู้ช่วยศาสตราจารย์

2. สถานที่ทำงาน: ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ อ.เมือง จ.บุรีรัมย์ 31000 โทรศัพท์ : 044 611221 ต่อ 130
มือถือ 089 720 1597 โทรสาร 044 612 858 E-mail: psommai63@yahoo.com

3. ประวัติการศึกษา

Doctor of philosophy in Chemistry, Drug Design and Molecular Medicine, University of Pune, India, 2006, **ICCR scholarship** (2006)

หัวข้อวิทยานิพนธ์ : Study of Biologically Active Metal Conjugates of Quinolone and Retinoid Analogs

ปริญญาโท (วท.ม.) เคมีวิเคราะห์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 2541 (1998)

หัวข้อวิทยานิพนธ์: Isolation Purification and Application of Siderophore for Iron Determination

ปริญญาตรี (กศ.บ.) เคมี มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ มหาสารคาม 2530 (1987)

Cert. in Writing Skills from Institute of Advanced Studied in English

Cert. in English Communication from Institute of Advanced Studied in English

Cert. in English Language Intensive Course for International Students

Cert. in **Hypercourse on Bioinformatics** from Technology Management Center, National Science and Technology Development Agency, NSTDA

Cert. in **Risks and Dangers of Chemical Products** from Technology Management Center, National Science and Technology Development Agency, NSTDA

4. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

การออกแบบและสังเคราะห์ยา เครื่องสำอาง อาหาร นาโนเทคโนโลยี เทคโนโลยีชีวภาพ สิ่งแวดล้อมและจุลินทรีย์

5. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

5.1 หัวหน้าโครงการวิจัย: Isolation Purification and Application of Some Compounds from Bacteria

แหล่งทุน: มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

งานวิจัยลุล่วง: 100 %

5.2 หัวหน้าโครงการ: การสกัด และการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสมุนไพร

แหล่งทุน: มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

งานวิจัยลุล่วง: 100 %

5.3 หัวหน้าโครงการ: Synthesis Physicochemical Characterization and Biological Evaluation of Levofloxacin Copper Complexation

แหล่งทุน: มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

งานวิจัยลุล่วง: 100 %

5.4 หัวหน้าโครงการ: Synthesis Physicochemical Characterization and Biological Evaluation of Levofloxacin Cobalt Complexation

แหล่งทุน: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว)

งานวิจัยลุล่วง: 100 %

5.5 ผู้ร่วมวิจัย: Information uses and information needs of Tourists in the Provinces in Lower Northeastern Region

แหล่งทุน: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว)

งานวิจัยลุล่วง: 100 %

5.6 หัวหน้าโครงการ: Biological Evaluation of Siderophore Against Fungi Disease in Onion Leaves

แหล่งทุน: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว)

งานวิจัยลุล่วง: 100 %

5.7 หัวหน้าโครงการ: Physicochemical Characterization and Biological Evaluation of Mixed ligand Metal Quinolone Complexes

แหล่งทุน: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว)

งานวิจัยลุล่วง: 100 %

5.8 หัวหน้าโครงการ: การศึกษาแบบบูรณาการเพื่อแก้ปัญหาความยากจนในชุมชนโดยใช้ทฤษฎีเศรษฐกิจพอเพียง: กรณีศึกษาบ้านตราดตรวน หมู่ 4 ต.ชุมเห็ด อ.เมือง จ.บุรีรัมย์

แหล่งทุน: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช)

งานวิจัยลุล่วง: 100 %

5.9 หัวหน้าโครงการ: การสกัด การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพและการย้อมสีไหมของผักเม็ก

แหล่งทุน: มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

งานวิจัยลุล่วง: 100 %

5.10 หัวหน้าโครงการ: การศึกษารูปแบบที่เหมาะสมเพื่อการพัฒนานักวิจัยในคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

แหล่งทุน: มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

งานวิจัยลุล่วง: 100 %

5.11 หัวหน้าโครงการ: สมบัติทางเคมี-ฟิสิกส์ และการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของไฮดราโซน (Physico-chemical Properties and Biological Investigation of Hydrazones)

แหล่งทุน: มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

งานวิจัยลุล่วง: 100 %

ประวัตินักวิจัย

ผศ.ดร.กิ่งแก้ว ปะติตังโข : ผู้ร่วมโครงการวิจัย

1. ตำรา

1.1 กิ่งแก้ว ปะติตังโข. (2549). **บริการสารสนเทศ**. บุรีรัมย์: คณะมนุษยศาสตร์และสังคมศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์.

1.2 กิ่งแก้ว ปะติตังโข. (2549). **การจัดการสิ่งพิมพ์ต่อเนื่อง**. บุรีรัมย์: คณะมนุษยศาสตร์และสังคมศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์.

1.3 กิ่งแก้ว ปะติตังโข. (2551). **การศึกษาผู้ใช้**. บุรีรัมย์: คณะมนุษยศาสตร์และสังคมศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์.

1.4 กิ่งแก้ว ปะติตังโข. (2552). **การเผยแพร่สารสนเทศ**. บุรีรัมย์: คณะมนุษยศาสตร์และสังคมศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์.

2. บทความ

2.1 Patitungkho, K. & Deshpande, N. J. (2005). " Information Seeking Behaviour of Faculty Members of Rajabhat Universities in Bangkok." *Webology*, **2**(4), Article 20. Available at: http://www.webology.ir/2005/v2n4/a20.html

2.2 บทความวิจัย เรื่อง “การใช้และความต้องการสารสนเทศของนักท่องเที่ยวในกลุ่มอีสานใต้ Information uses and information needs of Tourists in the Provinces in Lower Northeastern Region” **วารสารวิจัยสมาคมห้องสมุดแห่งประเทศไทยฯ**. 2, 2 (ก.ค.-ธ.ค. 2552) : 45-51

2.3 **บทความวิจัย** เรื่อง “การจัดการขยะมูลฝอยในเขตพื้นที่เทศบาลตำบลอิสาณ อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์” **วารสารวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์.** 4(2); ก.ค –ธ.ค. 2552. หน้า 60-72.

4. **บทความวิจัย** เรื่อง “การใช้ศูนย์วิทยบริการของนักศึกษากัมพูชาในมหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์” **รมยสาร**. 8(1); ม.ค.- มิ.ย. 2553. หน้า 23-32.

3. งานวิจัย

งานวิจัยที่แล้วเสร็จ

3.1 พ.ศ. 2549 โครงการวิจัย เรื่อง “การใช้และความต้องการสารสนเทศของนักท่องเที่ยวในกลุ่มอีสานใต้” ได้รับทุนสนับสนุนจาก สกว.

3.2 พ.ศ. 2551 โครงการวิจัย “การใช้อินเทอร์เน็ตของนักศึกษามหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์” ได้รับทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

3.3 พ.ศ. 2551 โครงการวิจัย “ศักยภาพของบุคลากรมหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์” ได้รับทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

3.4 การบูรณาการการท่องเที่ยวเพื่อสร้างความสัมพันธ์ระหว่างไทย – กัมพูชา: The Integrated study of Tourism for making the relationship between Thailand and Cambodia (เสนอสกว.เป็นวิจัยร่วม)

3.5 การจัดการขยะมูลฝอยในเทศบาลตำบลอิสาณ จ.บุรีรัมย์ (เสนอสกว.เป็นหัวหน้าวิจัย)