



โครงการ

การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ อุปกรณ์ตรวจวัดฐานกระดาษแข็งสีที่มีความไวและความจำเพาะเจาะจงสูงโดยใช้อนุภาคนาโนของเงินสำหรับตรวจวัดอะม็อกซิซิลลิน

Highly sensitive and selective paper-based colorimetric sensor using a silver nanoparticles for determination of amoxicillin

ชื่อนิสิต นางสาวอมลรจี ใจแก้ว

ภาควิชา เคมี

ปีการศึกษา 2559

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อุปกรณ์ตรวจวัดฐานกระดาษเชิงสีที่มีความไวและความจำเพาะ
เจาะจงสูงโดยใช้อนุภาคนาโนของเงินสำหรับตรวจวัดอะม็อกซิซิลลิน

Highly sensitive and selective paper-based colorimetric
sensor using a silver nanoparticles for determination of
amoxicillin

โดย
นางสาวอมรรุจี ใจแก้ว

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2559

โครงการ อุปกรณ์ตรวจวัดฐานกระดาศเชิงสี่ที่มีความไวและความจำเพาะเจาะจงสูงโดยใช้อนุภาคนาโนของเงินสำหรับตรวจวัดอะม็อกซิซิลลิน

โดย นางสาวอมลรจี ใจแก้ว

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ


.....ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. นาทยา งามโรจนวณิชย์)


.....อาจารย์ที่ปรึกษา

(ศาสตราจารย์ ดร. อรวรรณ ชัยลภากุล)


.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ม.ล. ศิริพัศตร์ ไชยันต์)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

.....หัวหน้าภาควิชาเคมี

(รองศาสตราจารย์ ดร. วุฒิชัย พาราสุข)

วันที่ เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2560

คุณภาพของการเขียนรายงานเล่มนี้อยู่ในระดับ ดีมาก ดี พอใช้

ชื่อโครงการ อุปกรณ์ตรวจวัดฐานกระตาศเชิงสี่ที่มีความไวและความจำเพาะเจาะจงสูงโดยใช้
อนุภาคนาโนของเงินสำหรับตรวจวัดอะมีนซีซอลิน

ชื่อนิสิตในโครงการ นางสาวอมลรุจี ใจแก้ว เลขประจำตัว 5633168223

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ศาสตราจารย์ ดร. อรรวรรณ ชัยลภากุล
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2559

บทคัดย่อ

การพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดฐานกระตาศเชิงสี่ที่มีความไวและความจำเพาะเจาะจงสูงสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณอะมีนซีซอลิน ระบบการตรวจวัดอาศัยการรวมตัวของอนุภาคนาโนของเงินในสารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์กับอะมีนซีซอลินจากกระบวนการสลายโมเลกุล ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนสีของอนุภาคนาโนของเงินจากสีชมพูไปเป็นสีม่วงและการดูดกลืนสเปกตรัมของแสงของอนุภาคนาโนเงินที่ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตรลดลง แล้วยังปรากฏสเปกตรัมใหม่ในช่วงความยาวคลื่น 600 ถึง 700 นาโนเมตรเมื่อมีปริมาณของอะมีนซีซอลินจากกระบวนการสลายโมเลกุลเพิ่มมากขึ้น อุปกรณ์ตรวจวัดฐานกระตาศเชิงสี่เป็นอุปกรณ์ที่ใช้งานง่ายและรวดเร็วสำหรับการวิเคราะห์อะมีนซีซอลินโดยอาศัยการรวมตัวของอนุภาคนาโนของเงิน สำหรับอุปกรณ์นี้ถูกสร้างขึ้นมาด้วยเทคนิคการพิมพ์ซีดีลงบนกระตาศเมื่ออะมีนซีซอลินจากกระบวนการสลายโมเลกุลทำปฏิกิริยากับอนุภาคนาโนของเงินที่อยู่บริเวณการตรวจวัดบนกระตาศ จะเกิดการเปลี่ยนสีจากสีชมพูเป็นสีม่วงซึ่งสามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่า นอกจากนี้ยังมีหลายปัจจัยที่ส่งผลต่อการวิเคราะห์หาปริมาณอะมีนซีซอลิน ประกอบไปด้วย ความเป็นกรด-เบส ขนาดของอนุภาคนาโนของเงิน ความเข้มข้นของอนุภาคนาโนของเงิน และผลของปริมาตรกรดไฮโดรคลอริกสำหรับการตรวจวัดเชิงปริมาณของอะมีนซีซอลินภายใต้ภาวะที่เหมาะสมโดยใช้ขบวนการการถ่ายภาพ ผลการทดลองที่ได้พบว่ากราฟเส้นตรงในช่วงความเข้มข้นของอะมีนซีซอลินที่ 10 ไมโครโมลาร์ ถึง 40 ไมโครโมลาร์ มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ 0.9921 ซึ่งมีขีดจำกัดในการตรวจวัด ($S/N=3$) และขีดจำกัดในการตรวจวัดเชิงปริมาณ ($S/N=10$) ในการตรวจวัดอะมีนซีซอลินเท่ากับ 1.34 ไมโครโมลาร์ และ 4.47 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ ในงานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จในการตรวจวัดอะมีนซีซอลินในตัวอย่างเภสัชภัณฑ์ ซึ่งผลที่ได้จากอุปกรณ์นี้พบเมื่อทำการคำนวณหาค่าพิจารณาค่าความแตกต่างแบบจับคู่ ค่าที่ได้มีค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญได้เมื่อเทียบกับค่าระบุจากผู้ผลิต

คำสำคัญ: อุปกรณ์ฐานกระตาศ, การตรวจวัดเชิงสี่, อนุภาคนาโนของเงิน, อะมีนซีซอลิน

Project Title Highly sensitive and selective paper-based colorimetric sensor using
 a silver nanoparticles for determination of amoxicillin

Student Name Miss Amonrujee Jaikaew Student ID 5633168223

Advisor Name Prof. Dr. Orawon Chailapakul

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

Abstract

Highly sensitive and selective paper-based colorimetric device for determination of amoxicillin has been developed. The system is based on aggregation of silver nanoparticles (AgNPs) in phosphate buffer (pH = 3) for the presence of the degradation product of amoxicillin. It indicated that the color of AgNPs changed from pink to purple, and the absorption peak intensity of AgNPs at 525 nm decreased. A new absorption band was appeared in the wavelength range between 600 and 700 nm upon addition of degradation product of amoxicillin. A paper-based colorimetric sensor was then developed for the simple and rapid determination of amoxicillin using the aggregation of AgNPs. This sensor was easily fabricated by wax printing method. In the presence of the degradation product of amoxicillin, the color of AgNPs changed from pink to purple at the detection zone and the change can be visually assessed by naked eyes. Moreover, various parameters affecting the quantification of amoxicillin including the effect of solution pH, silver nanoparticles concentration, silver nanoparticles size, and volume of hydrochloric acid were investigated. For quantitative measurement with image processing under optimal conditions, a good linearity was observed for the concentration of amoxicillin ranging from 10 to 40 μM with a correlation coefficient of 0.9921. The limit of detection and the limit of quantitation for amoxicillin ions were found to be 1.34 μM (S/N=3) and 4.47 μM (S/N=10), respectively. The proposed method was successfully applied to detect amoxicillin in pharmaceutical samples. The results were in good agreement according to a paired t-test with those specified by the respective manufacturers.

Keywords: paper-based device, colorimetric method, silver nanoparticles, amoxicillin

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ศาสตราจารย์ ดร. อรวรรณ ชัยลภากุล อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ ที่ได้เอื้อเฟื้อสถานที่
ทำแลป อุปกรณ์ต่าง ๆ ในการทำวิจัย รวมทั้งให้ความรู้ คำปรึกษา คำแนะนำต่าง ๆ ตลอดโครงการนี้

ขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. นาทยา งามโรจนวณิชช์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ม.ล. ศิริพัศตร์
ไชยันต์ ซึ่งได้เป็นกรรมการประเมินโครงการนี้

ขอขอบคุณ ดร. สุธเขต ไชโย ที่ได้ให้คำปรึกษา คำแนะนำ และความช่วยเหลือตลอดระยะเวลาใน
การทำโครงการนี้

และขอขอบคุณ พี่ ๆ สมาชิกทุกคนในหน่วยปฏิบัติการวิจัยเชิงเคมีไฟฟ้าและแสง ที่ได้ช่วยและให้
คำแนะนำอันเป็นประโยชน์แก่ผู้วิจัยในโครงการนี้



สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ณ
สารบัญรูปภาพ	ญ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ	2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
1.4 ทฤษฎี	3
1.4.1 อะม็อกซีซิลลิน	3
1.4.2 อุปกรณ์ฐานกระดาษ	4
1.4.3 เทคนิคการตรวจวัดเชิงสี	5
1.4.4 อนุภาคนาโนของเงิน	5
1.4.5 การรวมตัวของอนุภาคนาโนของเงินกับอะม็อกซีซิลลิน	6
1.4.6 โปรแกรม imageJ	7
1.4.7 เทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี	7
1.4.8 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีตรวจวัด	8
1.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	10
บทที่ 2 การทดลอง	
2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์	11
2.2 สารเคมี	13
2.3 การเตรียมสารละลาย	14
2.3.1 การเตรียมอนุภาคนาโนของเงิน	14
2.3.2 เตรียมสารละลายอะม็อกซีซิลลิน ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์	15
2.3.3 สารละลายอะม็อกซีซิลลินที่ถูกสลายโมเลกุลความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์	15
2.3.4 สารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์	16
2.3.5 สารละลายอะม็อกซีซิลลินที่ถูกสลายโมเลกุลผสมกับฟอสเฟสบัฟเฟอร์	16

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
2.3.6 สารอื่นๆ ที่สามารถบวกรวมการวิเคราะห์ห่อหุ้มอกซีซิลลินบนอุปกรณ์ ฐานกระดาษ	18
2.3.7 การเตรียมสารละลายตัวอย่างยา 3 ตัวอย่าง คือ MOXIMED Starmox และ Fleming	19
2.4 การศึกษาการเกิดปฏิกิริยาเชิงสีของห่อหุ้มอกซีซิลลินด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรสโกปี	19
2.5 การเตรียมอุปกรณ์ฐานกระดาษ	20
2.6 วิธีการตรวจวัดห่อหุ้มอกซีซิลลินบนอุปกรณ์ฐานกระดาษ	21
2.7 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดห่อหุ้มอกซีซิลลินบนอุปกรณ์ฐานกระดาษ	23
2.8 การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการตรวจวัดห่อหุ้มอกซีซิลลินบนอุปกรณ์ฐาน กระดาษ	23
บทที่ 3 ผลการทดลอง	
3.1 การศึกษาการเกิดปฏิกิริยาเชิงสีของห่อหุ้มอกซีซิลลินด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรสโกปี	24
3.2 การหาภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดห่อหุ้มอกซีซิลลินบนอุปกรณ์ฐานกระดาษ	25
3.2.1 การทดสอบหาความเป็นกรด-เบสที่เหมาะสม	25
3.2.2 การทดสอบหาขนาดของอนุภาคนาโนของเงินที่เหมาะสม	26
3.2.3 การทดสอบหาความเข้มข้นของอนุภาคนาโนของเงินสีชมพูที่ เหมาะสม	28
3.2.4 การทดสอบหาปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่เหมาะสม	29
3.3 การศึกษาประสิทธิภาพของการตรวจวัดห่อหุ้มอกซีซิลลินบนอุปกรณ์ฐานกระดาษ	30
3.3.1 การศึกษาความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัดห่อหุ้มอกซีซิลลินช่วง ความเข้มข้นของห่อหุ้มอกซีซิลลิน 10 ถึง 40 ไมโครโมลาร์	30
3.3.2 การศึกษาขีดจำกัดการตรวจวัดและขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณ ในการตรวจวัดห่อหุ้มอกซีซิลลิน	31
3.3.3 ความจำเพาะของวิธีการตรวจวัด	32
3.3.4 ความเที่ยงของวิธีการตรวจวัด	33
3.3.5 ผลของการหาปริมาณห่อหุ้มอกซีซิลลินในตัวอย่างจริง	35
3.3.6 ผลของการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ระหว่างวิธีที่พัฒนาขึ้นกับค่า ฉลากข้างขวด	36
บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง	37
เอกสารอ้างอิง	38

สารบัญ(ต่อ)

ภาคผนวก
ประวัติผู้วิจัย

หน้า
41
45



สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
1.1 แสดงระดับความเที่ยงของวิธีการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน	9
2.1 แสดงอัตราส่วนระหว่างของซิลเวอร์/ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์	15
2.2 ปริมาตรสารละลายที่ใช้เตรียมสารละลายอะมีนอะซีลิลินที่ถูกสลายโมเลกุลผสมกับสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์	17
2.3 แสดงการเตรียมสารอื่นๆ สามารถรบกวนการวิเคราะห์อะมีนอะซีลิลิน	18
3.1 สีของสารบนอุปกรณ์ฐานกระดาษที่ความเป็นกรด-เบสของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ต่างกัน	26
3.2 สีของสารบนอุปกรณ์ฐานกระดาษที่ขนาดของอนุภาคนาโนของเงินต่างกัน	27
3.3 สีของสารบนอุปกรณ์ฐานกระดาษที่ความเข้มข้นของอนุภาคนาโนของเงินสีชมพูต่างกัน	28
3.4 สีของสารบนอุปกรณ์ฐานกระดาษที่ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกต่างกัน	29
3.5 ผลต่างความเข้มสีเฉลี่ยของอะมีนอะซีลิลินความเข้มข้น 10 25 และ 40 ไมโครโมลาร์	34
3.6 แสดงค่า %Recovery และค่า %RSD ในการวิเคราะห์ปริมาณอะมีนอะซีลิลินในตัวอย่างยา (n=3)	35
3.7 แสดงการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ระหว่างวิธีที่พัฒนาขึ้นกับค่าฉลากข้างขวด (n=3)	36

สารบัญรูป

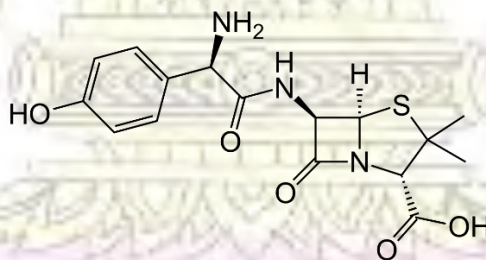
รูปภาพ	หน้า
1.1 โครงสร้างของอะมีกซีซิลลิน	1
1.2 วงเบต้าแลคแทมในโครงสร้างของอะมีกซีซิลลิน	3
1.3 อุปกรณ์ฐานกระดาษตัวอย่าง	4
1.4 การเปลี่ยนแปลงความเข้มสีของสารละลายเหล็กไอออนโดยเกิดปฏิกิริยาการกัดกร่อนของทอง	5
1.5 อนุภาคนาโนของเงินสีต่าง ๆ	6
1.6 การรวมตัวของอนุภาคนาโนของเงินกับอะมีกซีซิลลินที่ทำให้เกิดสี	6
1.7 โปรแกรม imageJ	7
2.1 กล้องควบคุมแสง	13
2.2 การออกแบบอุปกรณ์ฐานกระดาษ	20
2.3 ขั้นตอนการเตรียมอุปกรณ์ฐานกระดาษ	20
3.1 การดูดกลืนแสงของปฏิกิริยารวมตัวของอนุภาคนาโนของเงินกับอะมีกซีซิลลิน	25
3.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างความเข้มสีเฉลี่ยกับความเข้มข้นของกรด-เบส	26
3.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าผลต่างความเข้มสีเฉลี่ยกับขนาดของอนุภาคนาโนของเงิน	27
3.4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าผลต่างความเข้มสีเฉลี่ยกับความเข้มข้นของอนุภาคนาโนของเงิน	28
3.5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างความเข้มสีเฉลี่ยกับปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริก	30
3.6 กราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างความเข้มสีเฉลี่ยกับความเข้มข้นของอะมีกซีซิลลิน	31
3.7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างความเข้มสีเฉลี่ยกับสารที่มีอยู่ในยา	32
3.8 ความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างความเข้มสีเฉลี่ยของอะมีกซีซิลลินกับจำนวนครั้งของการตรวจวัด	33

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

อะม็อกซิซิลลิน (Amoxicillin) เป็นยาปฏิชีวนะรักษาการติดเชื้อจากแบคทีเรีย (Bacteria) ที่อยู่ในกลุ่มเพนิซิลลิน (Penicillins) ซึ่งพัฒนามาจากสารต้านจุลชีพเบต้าแลคแทม (Beta-lactam antibiotics) อะม็อกซิซิลลินมีวงเบต้าแลคแทม (Beta-lactam ring) เป็นโครงสร้างพื้นฐาน ออกฤทธิ์โดยยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรีย (Bacterial cell wall) โดยแบคทีเรียแกรมบวก (Gram-positive bacteria) และแบคทีเรียแกรมลบ (Gram-negative bacteria) บางชนิดในมนุษย์และสัตว์ ส่งผลทำให้แบคทีเรียไม่สามารถมีชีวิตอยู่ได้และตายในที่สุด ดังนั้นอะม็อกซิซิลลินจึงใช้รักษาโรคที่ติดเชื้อจากแบคทีเรียได้ โดยแพทย์เป็นผู้วินิจฉัยในการสั่งจ่ายยาที่เหมาะสม ซึ่งยาอะม็อกซิซิลลินมีการนำมาใช้ในการรักษาโรคได้หลากหลายชนิด เช่น โรคหนองในชนิดไม่ซับซ้อน โรคที่มีการติดเชื้อจากการรักษาฟัน โรคเหงือกบวม ซึ่งปริมาณการใช้ยาก็จะแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับชนิดของโรคและความรุนแรงของโรค สำหรับเด็กการใช้ยาอะม็อกซิซิลลินจะขึ้นอยู่กับน้ำหนักตัว ดังนั้นการตรวจวัดปริมาณอะม็อกซิซิลลินในเภสัชภัณฑ์จึงมีความสำคัญต้องเป็นวิธีที่ถูกต้องและแม่นยำสูงเพื่อรายงานปริมาณยาอะม็อกซิซิลลินที่เหมาะสมกับผู้ป่วยที่นำยาอะม็อกซิซิลลินไปใช้เพื่อรักษาโรคต่อไป^{1,2}



รูปที่ 1.1 โครงสร้างของอะม็อกซิซิลลิน

ในปัจจุบันมีวิธีมาตรฐานหลายวิธีในการวัดปริมาณอะม็อกซิซิลลิน เช่น ไฮเพอร์เฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี (High performance liquid chromatography, HPLC)³ แคปิลลารีอิเล็กโทรโฟรีซิส (Capillary electrophoresis, CE)⁴ เคมีลูมิเนสเซนซ์ (Chemiluminescence)⁵ และโวลแทมเมตรี (Voltammetry)⁶ ซึ่งวิธีมาตรฐานเหล่านี้มีข้อดีคือ มีความไว (Sensitivity) และความจำเพาะเจาะจง (Selectivity) สูง แต่ยังมีข้อจำกัดของวิธีตรวจวัด เช่น ใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน มีราคาแพง เครื่องมือ

มีขนาดใหญ่และต้องมีผู้เชี่ยวชาญทางเทคนิคและเครื่องมือโดยเฉพาะ เป็นต้น นอกจากนี้การตรวจวัดอะมิวอกซีซิลลินมีการมุ่งเน้นการประยุกต์ใช้วิธีการตรวจวัดด้วยสีด้วยอนุภาคนาโนของโลหะ (Metal nanoparticles) ซึ่งอนุภาคนาโนของโลหะสามารถสังเคราะห์ขึ้นได้ง่ายและมีขนาดของอนุภาคนาโนของโลหะที่หลากหลาย เช่น อนุภาคนาโนของทอง (Gold nanoparticles, AuNPs) และ อนุภาคนาโนของเงิน (Silver nanoparticles, AgNPs) เป็นต้น ถ้าขนาดของอนุภาคนาโนของโลหะนั้นมีการเปลี่ยนแปลง^{7,8} จะทำให้สีของสารละลายเปลี่ยนแปลงไปได้ หลักการเปลี่ยนแปลงสีดังกล่าวจึงมีประโยชน์ต่อการตรวจวัดอะมิวอกซีซิลลิน เมื่อเติมอะมิวอกซีซิลลินนำไปทดสอบกับอนุภาคนาโนของโลหะ สารทั้งสองจะเกิดการรวมตัวกัน (Aggregation) ทำให้ได้ขนาดของอนุภาคนาโนของโลหะเปลี่ยนแปลงไป ส่งผลให้สีของสารละลายเปลี่ยนแปลงไปด้วย การตรวจวัดสีเป็นเทคนิคที่ใช้งานง่าย สามารถวิเคราะห์ผลได้อย่างรวดเร็ว สามารถสังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงได้ด้วยตาเปล่า และสามารถประยุกต์ใช้ในอุปกรณ์ตรวจวัดทางเคมีวิเคราะห์ที่มีขนาดเล็กได้

โดยในปัจจุบันมีการพัฒนาการตรวจวัดด้วยสีบนอุปกรณ์ฐานกระดาษ (Colorimetric paper-based devices) ซึ่งเป็นอุปกรณ์ขนาดเล็กที่สร้างจากเส้นใยเซลลูโลสซึ่งมีต้นทุนต่ำ มีวิธีการใช้ที่สะดวกและรวดเร็ว ไม่ต้องใช้อุปกรณ์ที่มีความซับซ้อน สามารถใช้แล้วทิ้ง พกพาได้ สามารถใช้วิเคราะห์เชิงปริมาณได้ และสามารถนำไปใช้วิเคราะห์นอกห้องปฏิบัติการได้ โดยการออกแบบอุปกรณ์ฐานกระดาษนั้นสามารถทำได้ง่ายด้วยโปรแกรมทางคอมพิวเตอร์ ซึ่งกำหนดให้สารละลายเคลื่อนที่ในลักษณะต่าง ๆ บนกระดาษได้ด้วยส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) โดยใช้ขี้ผึ้ง (Wax) แล้วตรวจวัดความเข้มสีที่เกิดขึ้นด้วยโปรแกรม imageJ จากการถ่ายรูปด้วยกล้องดิจิทัลร่วมกับกล้องควบคุมแสงเพื่อไม่ให้ความเข้มสีเกิดการคลาดเคลื่อนได้

ดังนั้น ในงานวิจัยจึงสนใจพัฒนาวิธีการตรวจวัดอะมิวอกซีซิลลินโดยใช้อุปกรณ์ฐานกระดาษเชิงสีร่วมกับอนุภาคนาโนของเงินโดยจะทำลายโมเลกุลของอะมิวอกซีซิลลิน (Degradation) ด้วยสารละลายกรดเพื่อให้มีความจำเพาะเจาะจงกับอนุภาคนาโนของเงิน ซึ่งอนุภาคนาโนของเงินจะเกิดการรวมตัวเมื่อมีปริมาณของอะมิวอกซีซิลลินมากขึ้น จะเปลี่ยนจากสีชมพูเป็นสีม่วง ซึ่งงานวิจัยนี้จะใช้ปริมาตรสารที่น้อยกว่าและประหยัดค่าใช้จ่ายเมื่อเปรียบเทียบกับเทคนิคเดิมรวมถึงยังประหยัดเวลา และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจสอบคุณภาพอะมิวอกซีซิลลินในตัวอย่างยาได้อีกด้วย

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อพัฒนาวิธีการตรวจวัดอะมิวอกซีซิลลินโดยใช้อุปกรณ์ฐานกระดาษเชิงสีร่วมกับอนุภาคนาโนของเงิน
2. เพื่อนำวิธีการตรวจวัดที่กล่าวมาไปประยุกต์ใช้ในการตรวจสอบคุณภาพของตัวอย่างจริง เช่น ยาอะมิวอกซีซิลลิน

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

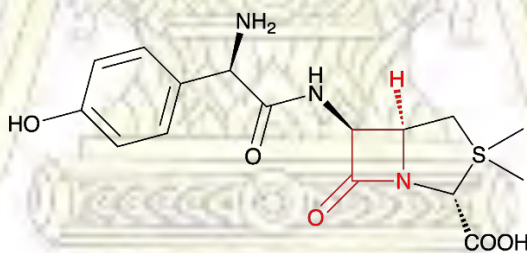
ได้อุปกรณ์ฐานกระดาษแข็งสีชนิดใหม่เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจสอบคุณภาพของอะม็อกซิซิลลินในยา

1.4 ทฤษฎี

1.4.1 อะม็อกซิซิลลิน (Amoxicillin)^{1,2,9}

อะม็อกซิซิลลิน เป็นยาปฏิชีวนะที่อยู่ในกลุ่มเพนิซิลลินซึ่งใช้ป้องกันและรักษาการติดเชื้อจากแบคทีเรีย โดยเฉพาะแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบบางชนิดในมนุษย์และสัตว์ อะม็อกซิซิลลินมีส่วนประกอบทางเคมีของสารที่พัฒนามาจากสารต้านจุลชีพเบต้าแลคแทม ทำให้อะม็อกซิซิลลินมีวงเบต้าแลคแทมเป็นโครงสร้างพื้นฐาน เนื่องจากแบคทีเรียมีผนังเซลล์เป็นส่วนนอกสุดของเซลล์ ซึ่งเป็นชั้นที่แข็งแรงคงทนเพื่อทำหน้าที่ป้องกันสิ่งที่อยู่ภายในเซลล์ ดังนั้นการออกฤทธิ์ของอะม็อกซิซิลลินจึงเป็นการยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรีนั่นคือยับยั้งการสังเคราะห์เพปทิโดไกลแคน (Peptidoglycan) ที่เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์โดยวงเบต้าแลคแทม ทำให้เกิดเซลล์ทำลายตัวเอง (Autolysis) เพราะไม่มีผนังเซลล์ ส่งผลทำให้แบคทีเรียไม่สามารถมีชีวิตอยู่ได้และตายในที่สุด ดังนั้นอะม็อกซิซิลลินจึงใช้รักษาโรคที่ติดเชื้อจากแบคทีเรียได้

ยาอะม็อกซิซิลลิน มีสรรพคุณรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียได้หลายโรค เช่น การติดเชื้อในช่องปาก ปอดอักเสบ ปอดบวม หูดติดเชื้อ หูน้ำหนวก หลอดลม หลอดลมอักเสบ และ ระบบทางเดินอาหาร (ถ้าใส่ อักเสบ) รูปแบบการจัดจำหน่ายของยาอะม็อกซิซิลลิน คือ แคปซูล ชนิดเม็ด ชนิดผงละลายน้ำ ยาฉีด และ ยาเม็ดที่ผสมกับยาอื่น ซึ่งในแต่ละรูปแบบของยามีปริมาณอะม็อกซิซิลลินไม่เท่ากัน เนื่องจากขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อโรคและความรุนแรงที่นำไปรักษา ดังนั้นจึงควรให้แพทย์เป็นผู้วินิจฉัยในการสั่งจ่ายยาที่เหมาะสม



รูปที่ 1.2 วงเบต้าแลคแทมในโครงสร้างของอะม็อกซิซิลลิน

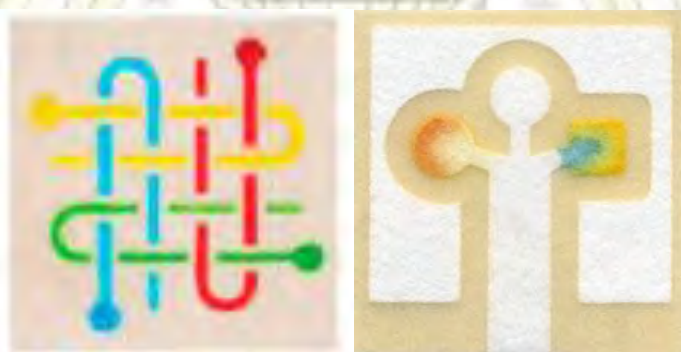
1.4.2 อุปกรณ์ฐานกระดาษ (Paper-based device)^{10,11,12}

เนื่องจากปัญหาเกี่ยวกับเครื่องมือตรวจวัดปริมาณสารที่มีขนาดใหญ่ เครื่องมือมีราคาแพง ใช้งานยาก และใช้ปริมาณสารมาก ทำให้นักวิจัยได้คิดค้นวิธีอื่นเพื่อทดแทนข้อเสียเหล่านี้ วิธีหนึ่งที่น่าสนใจคือ การใช้กระดาษซึ่งเป็นวัสดุที่ย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ หาซื้อได้ทั่วไปและราคาถูก ถูกนำมาพัฒนาใช้งานเกี่ยวกับการวิเคราะห์สาร โดยครั้งแรกที่ให้ความสนใจนำเอาอุปกรณ์ฐานกระดาษมาใช้นั้นเพื่อนำไปใช้ในงานวินิจฉัยและติดตามผลการรักษาโรคในประเทศกำลังพัฒนา พบว่าการวิเคราะห์สารด้วยอุปกรณ์ฐานกระดาษนั้นให้ผลที่สะดวก รวดเร็ว และมีประสิทธิภาพ จึงเริ่มมีการวิจัยและตีพิมพ์ผลงานเกี่ยวกับการใช้ประโยชน์จากอุปกรณ์ฐานกระดาษเพิ่มมากขึ้น¹³

การตรวจวัดปริมาณสารบนกระดาษได้อาศัยเทคนิคเกี่ยวกับของไหลจุลภาค (Microfluidics) ซึ่งเป็นการใช้ของไหลปริมาณน้อยระหว่าง 1-100 ไมโครลิตร ซึ่งในภาวะปกติกระดาษเป็นวัสดุที่ชอบน้ำ (Hydrophilic) เมื่อหยดน้ำลงบนกระดาษน้ำจะซึมไปทั่วกระดาษ เพื่อควบคุมทิศทางการไหลของสารละลายที่ต้องการวิเคราะห์ไปยังบริเวณทดสอบบนกระดาษได้ จึงต้องสร้างบางบริเวณบนกระดาษไม่ชอบน้ำขึ้น ตัวอย่างวิธีที่ใช้สร้างบริเวณบนกระดาษไม่ชอบน้ำ คือ การพิมพ์ด้วยแสง (Photolithography) การพิมพ์ด้วยเครื่องพล็อตเตอร์ (Plotter) การสลักด้วยการฉีดหมึก (Ink-jet etching) การปรับสภาพด้วยเลเซอร์ (Laser treatment) และการพิมพ์สกรีนด้วยขี้ผึ้ง (Wax printing) เป็นต้น

ข้อดีของอุปกรณ์ฐานกระดาษ คือ ใช้งานง่าย มีราคาถูก อุปกรณ์มีขนาดเล็ก ประหยัดสารที่ใช้ทดสอบ และสามารถนำไปใช้ได้จริงในภาคสนามได้ นอกจากนี้แล้วอุปกรณ์นี้สามารถนำไปพัฒนาและประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดสารต่าง ๆ ได้โดยสามารถตรวจวัดร่วมกับวิธีวิเคราะห์ซึ่งแบ่งได้ 4 วิธี คือ การตรวจหาโดยการเทียบสี การตรวจหาโดยวิธีการทางไฟฟ้า การตรวจหาโดยวิธีการทางเคมีเรืองแสง และวิธีการทางไฟฟ้าเคมีเรืองแสง

ในปัจจุบันการตรวจวัดสารบนอุปกรณ์ฐานกระดาษไม่ได้จำกัดการตรวจวัดเฉพาะการวินิจฉัยโรคทางการแพทย์เท่านั้น แต่สามารถนำไปตรวจวัดสารอื่น ๆ ได้มากมาย เช่น การตรวจวัดโลหะจากแหล่งน้ำ¹⁴ การตรวจวัดโลหะจากอาหาร¹⁵ การตรวจวัดสารเคมีที่อยู่ในฝุ่น¹⁶ เป็นต้น



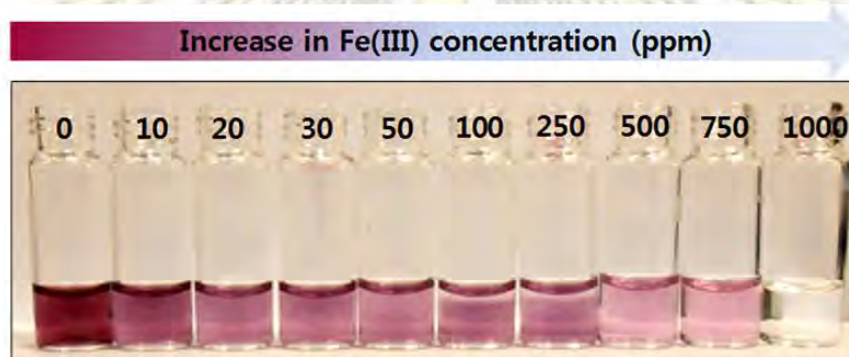
รูปที่ 1.3 อุปกรณ์ฐานกระดาษตัวอย่าง

1.4.3 เทคนิคการตรวจวัดเชิงสี (Colorimetric method)^{17,18}

เทคนิคการตรวจวัดเชิงสีเป็นเทคนิคที่ใช้ตรวจวัดโดยการเทียบสีโดยใช้สารรีเอเจนต์ (Reagent) ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการวิเคราะห์ ซึ่งจะได้ผลิตภัณฑ์ที่มีสีเปลี่ยนแปลงตามความเข้มข้นที่เกิดขึ้นได้ โดยความเข้มข้นที่เปลี่ยนแปลงจะสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารที่ต้องการวิเคราะห์ โดยการวิเคราะห์เชิงปริมาณสามารถทำได้โดยเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน

ประโยชน์ของเทคนิค คือ ง่าย รวดเร็ว และราคาถูก ทำให้ถูกนำมาใช้ในการตรวจวัดสารประกอบอินทรีย์และอนินทรีย์อย่างแพร่หลาย

ตัวอย่างการตรวจวัดด้วยเทคนิคการตรวจวัดเชิงสี¹⁹ เช่น การตรวจวัดหาปริมาณอนุภาคเหล็ก โดยใช้ปฏิกิริยาการกัดกร่อน (Leaching process) ของอนุภาคนาโนของทอง ในภาวะที่มีไทโอยูเรีย (Thiourea) และกรดไฮโดรคลอริก จะได้สีของสารละลายเกิดการเปลี่ยนแปลงจากสีม่วงเป็นสารละลายใสไม่มีสี เปลี่ยนแปลงตามความเข้มข้นของสารละลายอนุภาคเหล็กที่เพิ่มขึ้นมากขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 1.4



รูปที่ 1.4 การเปลี่ยนแปลงความเข้มสีของสารละลายอนุภาคเหล็กโดยเกิดปฏิกิริยาการกัดกร่อนของทอง¹⁹

1.4.4 อนุภาคนาโนของเงิน (Silver nanoparticles)^{7,8,20}

อนุภาคนาโนของเงิน คือ วัสดุขนาดนาโน (Nanomaterials) ที่สังเคราะห์ด้วยวิธีการทางนาโนเทคโนโลยี ซึ่งเป็นเทคโนโลยีประยุกต์ที่เกี่ยวข้องกับการจัดการ การสร้าง การสังเคราะห์วัสดุหรืออุปกรณ์ในระดับของอะตอม โมเลกุล หรือชิ้นส่วนที่มีขนาดเล็กในช่วง 1 ถึง 100 นาโนเมตร ซึ่งจะส่งผลให้วัสดุหรืออุปกรณ์ต่าง ๆ มีหน้าที่ใหม่และมีสมบัติที่พิเศษขึ้นทั้งทางด้านกายภาพ เคมี และชีวภาพ ทำให้มีประโยชน์ต่อผู้ใช้สอยและเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจได้

โดยขนาดของวัสดุที่มีขนาดเล็กลงนี้ทำให้เกิดลักษณะพิเศษที่แตกต่างไปจากเดิมอย่างหนึ่งคือ สมบัติเชิงแสงที่เปลี่ยนไป โดยทั่วไปโลหะเงินจะมีสีเงินแวววาว ซึ่งเมื่อลดขนาดโลหะเงินจนกลายเป็นอนุภาคของโลหะเงินที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาคอยู่ในระดับนาโนเมตร จะพบว่าอนุภาคเงินนาโนมีสีเหลืองเข้มนั้นเป็นเพราะว่าอนุภาคนาโนของโลหะมีขนาดเล็กกว่าความยาวคลื่นแสงที่มากกระทบมากและช่วงความยาวคลื่นแสงสั้นลงเกิดปรากฏการณ์เชิงแสงที่ เรียกว่า เซอร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์ (Surface plasmon resonance) ซึ่งจะส่งผลให้อนุภาคนาโนของเงินนั้นดูดกลืนสเปกตรัมของแสงที่อยู่ในช่วงสีน้ำเงิน (ความยาวคลื่นประมาณ 400 นาโนเมตร) ซึ่งจะทำให้อนุภาคนาโนของเงินเห็นเป็นสีเหลือง ดังนั้นช่วงความยาวคลื่นที่ถูกดูดกลืนจึงแปรผันตรงตามขนาดของอนุภาคนาโนของเงินและเกิดสีที่เปลี่ยนแปลงไปด้วยถ้าขนาดของอนุภาคนาโนของเงินนั้นมี

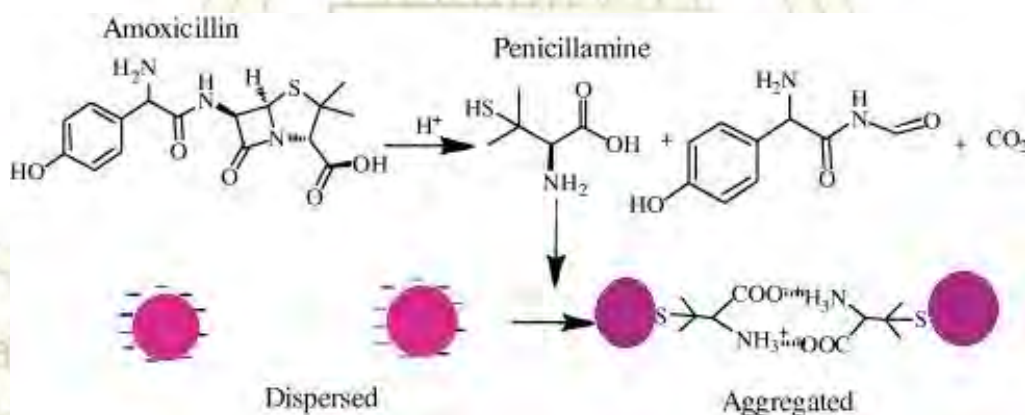
การเปลี่ยนแปลงจะทำให้สีของสารละลายเปลี่ยนแปลงไปได้ ตัวอย่างสีของอนุภาคนาโนของเงินที่เปลี่ยนไปตามขนาด คือ สีเหลือง (10 นาโนเมตร) สีชมพู (35 นาโนเมตร) สีม่วง (45 นาโนเมตร) และสีน้ำเงิน (50 นาโนเมตร)²¹ ดังรูปในรูปที่ 1.5 จากสมบัติพิเศษนี้สามารถนำอนุภาคนาโนของเงินไปประยุกต์ใช้ในการเป็นไบโอเซ็นเซอร์ตรวจจับสารชีวภาพหรือตรวจวัดสารต่างที่ทำให้ขนาดของอนุภาคนาโนเปลี่ยนไปได้



รูปที่ 1.5 อนุภาคนาโนของเงินสีต่าง ๆ

1.4.5 การรวมตัวของอนุภาคนาโนของเงินกับอะม็อกซิซิลลิน²²

ในภาวะปกติอะม็อกซิซิลลินไม่มีหมู่ไทโธล (Thiol group) อยู่ในโครงสร้าง จนกระทั่งเติมกรดและให้ความร้อน อะม็อกซิซิลลินจะสลายเป็นเพนิซิลลามีน (Penicillamine) ซึ่งเป็นสารที่มีหมู่ไทโธลอยู่ในโครงสร้างทำให้สามารถจับกับพื้นผิวของอนุภาคนาโนของเงินได้ เพนิซิลลามีนที่จับพื้นผิวของอนุภาคนาโนของเงินนั้นมีหมู่เอมีน (NH_3^+ group) เป็นประจุบวกและหมู่คาร์บอกซิล (COO^- group) เป็นประจุลบสามารถจับกับเพนิซิลลามีนอีกโมเลกุลได้ ทำให้เกิดการรวมตัวของอนุภาคนาโนของเงินมีขนาดใหญ่ขึ้นและสีเกิดการเปลี่ยนแปลงจากสีชมพูเป็นสีม่วง เนื่องจากปรากฏการณ์เชิงแสงที่ เรียกว่า เซอร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์ อนุภาคนาโนของเงินมีขนาดเล็กกว่าความยาวคลื่นแสงที่มากตกกระทบมากและช่วงความยาวคลื่นแสงสั้นลงเกิดเปลี่ยนไปดูดกลืนแสงสีเขียวแทนซึ่งส่งผลให้มีสีชมพู แสดงปฏิกิริยาดังในรูปที่ 1.6

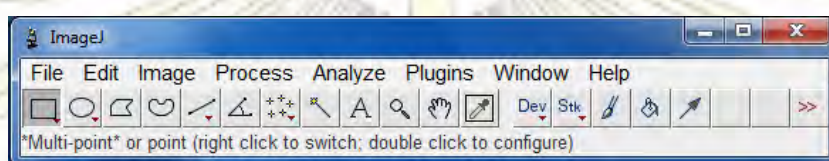


รูปที่ 1.6 การรวมตัวของอนุภาคนาโนของเงินกับอะม็อกซิซิลลินที่ทำให้เกิดสี

1.4.6 โปรแกรม imageJ²³

โปรแกรม imageJ เป็นโปรแกรมที่พัฒนาขึ้นโดยสถาบันวิจัย National Institute of Mental Health (NIMH) ประเทศสหรัฐอเมริกา มีประโยชน์อย่างมากในงานวิจัยที่จำเป็นต้องวัดระยะหรือพื้นที่ของวัตถุบนภาพ สามารถเปิดภาพเพื่อใช้ในการวิเคราะห์พร้อม ๆ กันหลายภาพได้ในเวลาเดียวกัน กำหนด Scale, Rotate, Flips ภาพได้ ซูมภาพได้และสามารถคำนวณสัดส่วนพื้นที่และพื้นที่ของวัตถุบนภาพได้ในหน่วย pixel ของรูปนั้นหรือหน่วยพื้นที่ตามมาตรฐาน เช่น ตารางมิลลิเมตร วัดระยะความยาวของวัตถุบนภาพ วัดความหนาแน่นของรูปภาพ แล้วแสดงในรูปแบบแผนภูมิแท่ง จัดทำค่าต่าง ๆ ในรูปสถิติได้

ข้อดีของ ImageJ คือ เป็นโปรแกรมแจกฟรี (Freeware) และอนุญาตให้ผู้ใช้แก้ไขตัวโปรแกรมได้ ใช้งานง่าย และนำมาใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย เป็นต้น



รูปที่ 1.7 โปรแกรม imageJ

1.4.7 เทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี (UV-visible spectroscopy)²⁴

เป็นเทคนิคที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณแสงและค่าการดูดกลืนในช่วงรังสียูวี (Ultraviolet) และช่วงแสงขาว (Visible) ที่ทะลุผ่านหรือถูกดูดกลืนโดยตัวอย่างที่วางอยู่ในเครื่องมือ ซึ่งสามารถวัดในช่วงความยาวคลื่นที่ 190 – 900 นาโนเมตร โดยที่ความยาวคลื่นแสงจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณและชนิดของสารที่อยู่ในตัวอย่างซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นสารอินทรีย์ สารประกอบเชิงซ้อนและสารอนินทรีย์ที่สามารถดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นเหล่านี้ได้

คุณสมบัติในการดูดกลืนแสงของสารเมื่อโมเลกุลของตัวอย่างถูกฉายด้วยแสงในช่วงรังสียูวีหรือแสงขาวที่มีพลังงานเหมาะสมจะทำให้อิเล็กตรอนภายในอะตอมเกิดการดูดกลืนแสงแล้วเปลี่ยนสถานะไปอยู่ในชั้นที่มีระดับพลังงานสูงกว่า เมื่อทำการวัดปริมาณของแสงที่ผ่านหรือสะท้อนมาจากตัวอย่างเทียบกับแสงจากแหล่งกำเนิดที่มีความยาวคลื่นค่าต่าง ๆ ตามกฎของ Beer-Lambert ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ของสารจะแปรผันกับจำนวนโมเลกุลที่มีการดูดกลืนแสง ดังนั้นจึงสามารถใช้เทคนิคนี้วิเคราะห์สารต่าง ๆ ทั้งเชิงคุณภาพ (ต้องใช้ร่วมกับเทคนิค Infrared Spectroscopy และ Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy) และเชิงปริมาณที่มีอยู่ในตัวอย่างได้ นอกจากนี้แล้วยังสามารถวิเคราะห์สารที่มี ไม่มีสี ที่อยู่ในรูปธาตุหรือโมเลกุลได้

1.4.8 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีตรวจวัด (Method validation)²⁵

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีตรวจวัด เป็นกระบวนการยืนยันความถูกต้อง ความเหมาะสมของวิธีการตรวจวัดเพื่อนำมาใช้วิเคราะห์สารตัวอย่างและช่วยให้ทราบถึงคุณสมบัติ เงื่อนไข หรือข้อจำกัดของวิธีการตรวจวัด โดยการตรวจสอบคุณลักษณะเฉพาะของวิธีการตรวจวัด เช่น ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง ขีดจำกัดการตรวจวัด ขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณ ความจำเพาะ ความเที่ยง เป็นต้น

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีตรวจวัดจะครอบคลุมถึงสมบัติของวิธีการตรวจวัด ดังนี้

1. ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity and range)

เป็นการหาความสามารถของวิธีการวิเคราะห์ที่จะทำให้ได้การวิเคราะห์ตัวอย่างที่ต้องการหาปริมาณสารอยู่ในช่วงความเข้มข้นที่ให้ความแม่นยำและความเที่ยงที่ยอมรับได้ โดยผลการวิเคราะห์ที่ได้จะเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของสารที่วิเคราะห์และวัดตั้งแต่ความเข้มข้นต่ำสุดถึงความเข้มข้นสูงสุดอย่างน้อย 5 ระดับความเข้มข้น

2. ขีดจำกัดการตรวจวัด (Limit of detection, LOD) และขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ)

ขีดจำกัดการตรวจวัด คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ในตัวอย่างที่สามารถตรวจวัดได้

$$\text{หาค่าขีดจำกัดการตรวจวัด จากสูตร } LOD = \frac{3 \times SD}{\text{slope}}$$

ขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณ คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ในตัวอย่างที่สามารถหาปริมาณ หรือรายงานผลโดยมีความแม่นยำและความเที่ยงที่ยอมรับได้

$$\text{หาค่าขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณ จากสูตร } LOQ = \frac{10 \times SD}{\text{slope}}$$

โดย SD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ blank

slope คือ ค่าความชันของกราฟเส้นตรง

และวัดความเข้มข้น blank ของสารตัวอย่าง (Sample blank) 11 ซ้ำ จากนั้นนำมาหาค่าเฉลี่ยและค่า SD แล้วแทนค่าที่ลงในสูตรหาค่าขีดจำกัดการตรวจวัดและค่าขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณ

3. ความจำเพาะ (Selectivity)

เป็นการหาความสามารถของวิธีวิเคราะห์ที่จะวิเคราะห์เฉพาะสารที่ต้องการจะวิเคราะห์ โดยที่สารนั้นเป็นเพียงส่วนประกอบหนึ่งในสารละลายนั้น ๆ หรือวิธีการวิเคราะห์ที่มีความสามารถในการเลือกวัดเฉพาะสารที่ต้องการจะวัด จึงจะกล่าวได้ว่าวิธีวิเคราะห์นั้นมีความจำเพาะ การศึกษาความจำเพาะของวิธีการวิเคราะห์ทำได้โดยการวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีหรือเติมสารรบกวนอื่น แล้วตรวจสอบดูว่าสารรบกวนเหล่านั้นมีผลกระทบต่อวิเคราะห์หรือไม่ และสารรบกวนเหล่านั้นทำให้การตรวจวัดหรือการหาปริมาณสารที่ต้องการทราบผิดไปหรือไม่

4. ความเที่ยง (Precision)

ความเที่ยง หมายถึง ความเที่ยงของการวิเคราะห์ซ้ำ ๆ กัน หลายๆ ครั้ง ความแตกต่างของผลการวิเคราะห์ที่ได้จากการวิเคราะห์ซ้ำ ๆ นี้มักจะแสดงเป็นค่า SD หรือสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (Coefficient of Variation, CV) ซึ่ง precision ของวิธีการวิเคราะห์มี 2 ลักษณะคือ

1. Repeatability หมายถึง ความแม่นยำที่เกิดจากการวิเคราะห์ซ้ำ ๆ ในสถานะเดียวกันโดยใช้วิธีเดียวกันในห้องปฏิบัติการเดียวกัน เครื่องมือชุดเดียวกันและผู้วิเคราะห์คนเดียวกัน โดยปกติจะวิเคราะห์เสร็จพร้อม ๆ กัน ทำให้มีจุดอ่อน คือ repeatability จะครอบคลุมเพียงความคลาดเคลื่อนขั้นต่ำเท่านั้น ดังนั้น จึงให้หาค่า repeatability ในช่วงสั้น ๆ เช่น 2 ถึง 3 วัน เป็นต้น

2. Reproducibility หมายถึง ความแม่นยำที่เกิดจากการวิเคราะห์ซ้ำ ๆ โดยใช้วิธีเดียวกัน ผู้วิเคราะห์ต่างกัน เครื่องมือคนละเครื่องกัน และทำในห้องปฏิบัติการคนละแห่งกันมักจะวิเคราะห์ซ้ำโดยใช้ช่วงเวลายาวพอสมควร ระดับของความแม่นยำขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่วิเคราะห์ ดังตารางที่ 1.1

ตารางที่ 1.1 แสดงระดับความเที่ยงของวิธีการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

ระดับความเข้มข้น	ระดับความเที่ยง (%RSD)		
	สูง	ปานกลาง	ต่ำ
trace analysis (ระดับ ppm)	0.1 – 1	1 – 10	10 – 35
Ultra - trace analysis (ppb, ppt)	1 – 10	10 – 35	>35
มากกว่า ppm	0.01 – 0.1	0.1 – 1	1 – 10

การหาระดับความเที่ยงโดยหาค่า %RSD

$$\%RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100$$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

x_i = ค่าที่วัดได้แต่ละครั้ง

\bar{x} = ค่าเฉลี่ยที่ได้

n = จำนวนครั้งที่ทำซ้ำ

1.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในปี 1999 Hernández และคณะ²⁶ ได้พัฒนาวิธีการตรวจวัดอะม็อกซิซิลลินในสารตัวอย่างน้ำเลือดของสัตว์ด้วยวิธีแคปิลลารีอิเล็กโทรฟอรีซิส ซึ่งวิธีแคปิลลารีอิเล็กโทรฟอรีซิสเป็นวิธีที่สามารถตรวจวัดสารอะม็อกซิซิลลินในตัวอย่างที่มีตัวรบกวนมากได้ดีและใช้สารปริมาณน้อย อีกทั้งในการตรวจวัดนี้ให้ค่าขีดจำกัดการตรวจวัดที่ 280 โมลาร์

ในปี 2003 Gamba และคณะ²⁷ ได้พัฒนาวิธีการตรวจวัดตัวอย่างยาในกลุ่มเพนิซิลลิน คือ อะม็อกซิซิลลิน และแอมพิซิลลิน (Ampicillin) ด้วยวิธีลิควิดโครมาโทกราฟี (Liquid chromatography) ร่วมกับเทคนิคฟลูออเรสเซน (Fluorescence) โดยให้ค่าขีดจำกัดการตรวจวัดอะม็อกซิซิลลินและแอมพิซิลลินที่ 3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

ในปี 2006 Li และคณะ²⁸ ได้พัฒนาวิธีการตรวจวัดอะม็อกซิซิลลินและรานิทิดีน (Ranitidine) ในสารตัวอย่างน้ำเลือดของหนูด้วยวิธีไฮเพอร์เฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟีโดยใช้รังสียูวีที่ความยาวคลื่น 230 นาโนเมตร ซึ่งในงานวิจัยนี้ยังใช้สารปริมาณน้อยและไม่ใช้สารละลายอินทรีย์ (Organic solvent) ในการเตรียม นอกจากนี้ยังสามารถใช้ศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ (Pharmacokinetic) ในสารตัวอย่างที่มียาสองชนิดได้อีกด้วย ซึ่งในงานวิจัยที่กล่าวมาข้างต้นจะมุ่งเน้นในการตรวจวัดทางด้านสเปกโตรเมตรี ซึ่งจะมีข้อเสียคือ เครื่องมือมีราคาแพงและต้องอาศัยความชำนาญในการใช้เครื่องมือ เป็นต้น

ต่อมาในปี 2008 Santos และคณะ⁶ ได้พัฒนาวิธีการตรวจวัดอะม็อกซิซิลลินในสารตัวอย่างปัสสาวะของมนุษย์ด้วยวิธีโวลแทมเมตรี โดยใช้กลูตาราลดีไฮด์ (Glutaraldehyde) เกิดปฏิกิริยาเชื่อมโยงระหว่างโมเลกุล (Cross-linked) กับกรดกลูตามิก (Polyglutamic acid) นำไปตัดแปรงบนขั้วกลางคาร์บอน (Glassy carbon electrode) ได้ค่าขีดจำกัดการตรวจวัดอะม็อกซิซิลลิน 0.92 ไมโครโมลาร์

ต่อมาได้มีการพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดบนฐานกระดาษ ตัวอย่างเช่น ในปี 2008 Li และคณะ²⁹ ได้พัฒนาออกแบบอุปกรณ์ฐานกระดาษที่สามารถควบคุมทิศทางการไหลของสารละลายได้และไม่ทำให้ความยืดหยุ่นและพื้นผิวของกระดาษเสียไปได้โดยใช้เยื่อหุ้มเซลล์ที่มีลักษณะไม่ชอบน้ำในการออกแบบตัวกีดขวางและควบคุมทิศทางการไหลของสารละลาย ซึ่งในงานวิจัยนี้มีข้อดีคือราคาถูก ใช้งานง่าย ขั้นตอนการเตรียมไม่ซับซ้อนและสามารถนำไปพัฒนาการตรวจวัดด้วยสียบนอุปกรณ์ฐานกระดาษต่อไป

ในปี 2009 Carrilho และคณะ³⁰ ได้พัฒนาการประดิษฐ์อุปกรณ์ฐานกระดาษการพิมพ์สกรีนด้วยซีดี โดยใช้เครื่องพิมพ์สำหรับพิมพ์ซีดีลงบนกระดาษ ซึ่งบริเวณที่เป็นซีดีเป็นส่วนที่ไม่ชอบน้ำและบริเวณที่ไม่เป็นซีดีเป็นส่วนที่ใช้ทดสอบสาร แล้วใช้เครื่องให้ความร้อนสำหรับละลายซีดีให้ละลายลงไปตามความหนาของกระดาษเพื่อเป็นตัวกีดขวางและควบคุมทิศทางการไหลของสารละลาย วิธีการนี้เป็นวิธีที่เร็วโดยใช้เวลาไม่เกิน 5 นาที จะได้เป็นอุปกรณ์ที่สามารถนำไปใช้ตรวจวัดสารต่าง ๆ โดยไม่ต้องใช้สารละลายมากนัก นอกจากนี้แล้วยังสามารถนำไปพัฒนารูปแบบอุปกรณ์ฐานกระดาษต่อไปได้

ต่อมาได้มีการใช้การตรวจวัดเชิงสีสำหรับอะม็อกซีซิลลิน ตัวอย่างเช่น ในปี 2015 Akhond และคณะ²² ได้พัฒนาการตรวจวัดเชิงสีที่ง่ายและมีความไวสูงสำหรับตรวจวัด อะม็อกซีซิลลินในยาโดยอาศัยการรวมตัวของอนุภาคนาโนของทองในภาวะที่มีอะซิเตท บัฟเฟอร์ (acetate buffer) และอะม็อกซีซิลลินจากกระบวนการสลายโมเลกุลด้วยกรดจะได้เป็นเพนิซิลลามีน ซึ่งพบว่าสีของอนุภาคนาโนของทองเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีม่วง ช่วงความเป็นเส้นตรงจากกราฟมาตรฐานอยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.3-4.5 ไมโครโมลาร์ และได้ค่าขีดจำกัดการตรวจวัดเท่ากับ 0.15 ไมโครโมลาร์

บทที่ 2

การทดลอง

2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- กระดาษกรอง (Filter paper Whatman no.1)
- เครื่องพิมพ์สกรีนด้วยสีผง ยี่ห้อ Xerox รุ่น ColorQube 8570
- เครื่องให้ความร้อน (Hotplate)
- เทปกาว
- คีม (Forcep)
- เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น Classic
- ไมโครปิเปต (Micropipette) ขนาด 10, 20, 100, 200, 1000 และ 5000 ไมโครลิตร
- ไมโครปิเปตทิป (Micropipette tip) ขนาด 10, 200, 1000 และ 5000 ไมโครลิตร
- หลอดไมโครเซ็นตริฟิวจ์ (Microcentrifuge tube) ขนาด 250, 1000 และ 2000 ไมโครลิตร
- ขวดกำหนดปริมาตร (Volumetric flask) 10 และ 50 มิลลิลิตร
- ปีกเกอร์ ขนาด 50 มิลลิลิตร
- ขวดแก้ว ขนาด 20 มิลลิลิตร
- เครื่องให้ความร้อน
- พีเอชมิเตอร์ (pH meter)
- ซ้อนตักสาร
- ครกบดสาร
- เครื่องทำความสะอาดด้วยแรงสั่น (Sonicator) รุ่น IL 60061
- เครื่องโฮโมจีไนเซอร์ (Homogenizer)
- เครื่องฉีดสารละลายอัตโนมัติ (Syringe pump)
- คอมพิวเตอร์พร้อมโปรแกรม imageJ
- กล้องดิจิทัล EOS 700D
- กล้องควบคุมแสง ดังแสดงในรูปที่ 2.1
- นาฬิกาจับเวลา
- ยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Vis spectrophotometer)
- Filter ขนาด 0.45 ไมโครโมลาร์



รูปที่ 2.1 กล่องควบคุมแสง

2.2 สารเคมี

- อะม็อกซิซิลลิน ((2S,5R,6R)- 6-[[[(2R)-2-amino- 2-(4-hydroxyphenyl)- acetyl]amino]- 3,3-dimethyl- 7-oxo- 4-thia- 1-azabicyclo[3.2.0]heptane- 24-carboxylic acid, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$), บริษัท Sigma ประเทศ Switzerland)
- เอทานอล (Ethanol, C_2H_6O), บริษัท Merck ประเทศ Germany)
- กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid, HCl), บริษัท Merck ประเทศ Germany)
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide, NaOH), บริษัท Merck ประเทศ Germany)
- น้ำ (MilliQ water)
- อนุภาคนาโนของเงิน (ขนาด 10 35 45 และ 50 นาโนเมตร)
- แลคโตส (Lactose, $C_{12}H_{22}O_{11}$), บริษัท Sigma ประเทศ United states of America)
- กลูโคส (Glucose, $C_6H_{12}O_6$), บริษัท Carlo Erba ประเทศ France)
- ซูโครส (Sucrose, $C_{12}H_{22}O_{11}$), บริษัท Sigma ประเทศ United states of America)
- กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid, $C_6H_8O_6$), บริษัท Carlo erba ประเทศ France)
- กรดยูริก (Uric acid, $C_5H_4N_4O_3$), บริษัท Wako ประเทศ Japan)
- แป้ง (Starch, $(C_6H_{10}O_5)_n$), บริษัท Merck ประเทศ Germany)
- โมโนบาสสิกโซเดียมฟอสเฟต (Sodium dihydrogen orthophosphate 1-hydrate, NaH_2PO_4), บริษัท Analar ประเทศ England)
- ไดบาสสิกโซเดียมฟอสเฟต (Di-sodium hydrogen phosphate dodecahydrate, Na_2HPO_4), บริษัท Merck ประเทศ Germany)
- กรดฟอสฟอริก (Phosphoric acid, H_3PO_4), บริษัท Merck ประเทศ Germany)
- ซิลเวอร์ไนเตรต (Silver nitrate, $AgNO_3$), บริษัท Carlo erba ประเทศ France)
- โซเดียมโบโรไฮไดรด์ (Sodium borohydride, $NaBH_4$), บริษัท Analar ประเทศ England)
- ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide, H_2O_2), บริษัท Merck ประเทศ Germany)

2.3 การเตรียมสารละลาย

2.3.1 การเตรียมอนุภาคนาโนของเงินประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ดังนี้

1. เตรียม 1 % ของน้ำแป้ง

- 1.1 ต้มน้ำ 1 ลิตร ให้เดือด
- 1.2 ชั่งแป้ง 12 กรัม ละลายในน้ำ 200 มิลลิลิตร
- 1.3 จากนั้นค่อยๆ เทน้ำแป้ง ในน้ำเดือดที่เตรียมไว้
- 1.4 รอสารละลายทั้งหมดเดือดอีกครั้ง หลังจากนั้นเริ่มจับเวลาต่อ อีก 5 นาที
- 1.5 หลังจาก 5 นาที ให้ปิดฝาแล้วปรับอุณหภูมิ 200 °C แล้วต้มต่อไปอีก 20 นาที
- 1.6 ทิ้งไว้ 1 คืน

2. การเตรียมอนุภาคนาโนของเงิน ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ 3.7280 มิลลิโมลาร์

- 2.1 เตรียมสารละลายซิลเวอร์ไนเตรดโดยชั่งซิลเวอร์ไนเตรด 0.3145 กรัม ละลายในน้ำแป้ง (จากขั้นตอนที่ 1) 250 มิลลิลิตร
- 2.2 เตรียมสารละลายโซเดียมโบโรไฮไดรด์โดยชั่งโซเดียมโบโรไฮไดรด์ 0.1050 กรัม ในน้ำแป้ง (จากขั้นตอนที่ 1) 250 มิลลิลิตร
- 2.3 นำสารละลายโซเดียมโบโรไฮไดรด์ ปริมาตร 250 มิลลิลิตร ตั้งไว้บนเครื่องโฮโมจีไนเซอร์ แล้วฉีดสารละลายซิลเวอร์ไนเตรดลงไปทั้งหมด โดยใช้เครื่องฉีดสารละลายอัตโนมัติด้วยการไหลที่ 106.08 มิลลิลิตรต่อนาที ซึ่งในขณะเดียวกันคน (stir) สารละลายด้วยเครื่องโฮโมจีไนเซอร์ ด้วยความเร็ว 10000 รอบต่อนาที
- 2.4 ปรับปริมาตรน้ำจนครบ 1300 มิลลิลิตร แล้วคนด้วยเครื่องโฮโมจีไนเซอร์ต่อไปอีก 30 นาที
- 2.5 นำไปต้มที่อุณหภูมิ 100 °C เวลา 2 ชั่วโมง เพื่อกำจัดโซเดียมโบโรไฮไดรด์ที่เหลือ (เมื่อครบ 2 ชั่วโมง จะเหลือปริมาตรประมาณ 600 มิลลิลิตร
- 2.6 จากนั้นทิ้งให้เย็นแล้วตั้งทิ้งไว้ 12 ชั่วโมง แล้วปรับปริมาตรอีกครั้งให้ครบ 1000 มิลลิลิตร (จะได้สีเหลืองเข้มสามารถนำไปใช้เพื่อนำไปรีดิวซ์เป็นสีต่างๆ ภายใน 24 ชั่วโมง)

3. การเตรียมอนุภาคนาโนของเงินสีต่างๆ

1. นำสารละลายอนุภาคนาโนของเงิน (สีเหลือง) 500 มิลลิลิตร ตั้งบนเครื่องโฮโมจีไนเซอร์แล้วฉีด 30% ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ด้วยเครื่องฉีดสารละลายอัตโนมัติ ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ด้วยความเร็ว 12.14 มิลลิลิตรต่อนาที ซึ่งในขณะเดียวกันคนด้วยเครื่องโฮโมจีไนเซอร์ด้วยความเร็ว 15000 รอบต่อนาที
2. คนต่อไปอีก 30 นาที จะได้สารละลายสีน้ำเงิน
3. ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง เพื่อกำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เหลือ

4. จะได้อนุภาคนาโนของเงินขนาด 50 นาโนเมตร (สีน้ำเงิน) ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร
5. ทำการเตรียมอนุภาคนาโนของเงินขนาดต่างๆ โดยเปลี่ยนอัตราส่วนระหว่างของซิลเวอร์/ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 แสดงอัตราส่วนระหว่างของซิลเวอร์/ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

สี	ขนาด (นาโนเมตร)	อัตราส่วนระหว่างของซิล เวอร์/ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์	ปริมาตรไฮโดรเจนเปอร์ ออกไซด์ (มิลลิลิตร)
น้ำเงิน	50	8 : 1	1.5
ม่วง	45	5 : 1	1
ชมพู	35	2.5 : 1	0.5

2.3.2 เตรียมสารละลายอะม็อกซิซิลลิน ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

ซึ่งอะม็อกซิซิลลิน 0.0183 กรัม ละลายด้วยน้ำผสมเอทานอลในอัตราส่วน 5:2 ในขวดกำหนดปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรถึงขีดที่กำหนดจะได้สารละลายอะม็อกซิซิลลินความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์

2.3.3 สารละลายอะม็อกซิซิลลินจากกระบวนการสลายโมเลกุล (Degradation) ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

1. ปิเปตสารละลายอะม็อกซิซิลลินความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ 2 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำ 3.99 มิลลิลิตร และกรดไฮโดรคลอริก 10 ไมโครลิตร ลงในขวดแก้ว
2. จากนั้นนำไปต้มบนเครื่องให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 98 °C เป็นเวลา 20 นาที
3. ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
4. จากนั้นไปปรับความเป็นกรด-ด่างด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 โมลาร์โดยตรวจวัดจากพีเอชมิเตอร์จนได้ pH 7.0
5. แล้วจึงนำไปปรับปริมาตรด้วยน้ำในขวดกำหนดปริมาตร 10 มิลลิลิตร ได้สารละลายอะม็อกซิซิลลินความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์

2.3.4 สารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ (Phosphate buffer) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่ pH 1 2 3 4 5 และ 6

1. ชั่งโมโนบาสิกโซเดียมฟอสเฟต 2.7600 กรัม ละลายด้วยน้ำในขวดกำหนดปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายโมโนบาสิกโซเดียมฟอสเฟตความเข้มข้น 0.2 โมลาร์
2. ชั่งไดบาสิกโซเดียมฟอสเฟต 0.2840 กรัม ละลายด้วยน้ำในขวดกำหนดปริมาตร 10 มิลลิลิตร จะได้สารละลายไดบาสิกโซเดียมฟอสเฟตความเข้มข้น 0.2 โมลาร์
3. จากนั้นนำสารละลายโมโนบาสิกโซเดียมฟอสเฟตที่ได้มา 92.0 มิลลิลิตร ผสมกับ สารละลายไดบาสิกโซเดียมฟอสเฟต 8.0 มิลลิลิตร จะได้สารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ที่ pH 6.0
4. แล้วแบ่งสารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์นำไปปรับ pH ด้วยกรดฟอสฟอริกความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ ให้ได้ pH 1 2 3 4 5 และ 6

2.3.5 สารละลายอะม็อกซิซิลลินจากกระบวนการสลายโมเลกุลความเข้มข้น 0 10 15 20 25 30 35 และ 40 ไมโครโมลาร์ ผสมกับสารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 200 ไมโครลิตร

1. เจือจางสารละลายอะม็อกซิซิลลินจากกระบวนการสลายโมเลกุลความเข้มข้น 1.0 มิลลิโมลาร์ ด้วยน้ำลงในหลอดไมโครเซ็นทริฟิวจ์ขนาด 2000 ไมโครลิตร ได้ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์
2. จากนั้นปิเปตสารละลายอะม็อกซิซิลลินจากกระบวนการสลายโมเลกุลความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ผสมกับสารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ และ blank solution ให้ปริมาตรสุดท้ายเป็น 200 ไมโครลิตร
3. ให้สารละลายอะม็อกซิซิลลินจากกระบวนการสลายโมเลกุลความเข้มข้น 0 10 15 20 25 30 35 และ 40 ไมโครโมลาร์ โดยใช้ปริมาตรในการผสมดังแสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ปริมาณสารละลายที่ใช้เตรียมสารละลายอะมีนออกซีซิลลินจากกระบวนการสลายโมเลกุลความเข้มข้น 0 10 15 20 25 30 35 และ 40 ไมโครโมลาร์ ผสมกับสารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ โดยมีปริมาตรสุดท้าย 200 ไมโครลิตร

สารละลายอะมีนออกซีซิลลินจากกระบวนการสลายโมเลกุลผสมกับสารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ (ไมโครโมลาร์)	สารละลายอะมีนออกซีซิลลินจากกระบวนการสลายโมเลกุล ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ (ไมโครลิตร)	สารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (ไมโครลิตร)
0	0	50
10	20	50
15	30	50
20	40	50
25	50	50
30	60	50
35	70	50
40	80	50

2.3.6 สารอื่นๆ ที่สามารถบวกรวมการวิเคราะห์ห่อะมีอกซีซิลลินบนอุปกรณ์ฐานกระดาษ ทั้งหมด 6 ชนิด ที่ความเข้มข้น 15 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 10 ไมโครลิตร

1. เตรียมสารอื่นๆ ที่สามารถบวกรวมการวิเคราะห์ห่อะมีอกซีซิลลิน ทั้งหมด 6 ชนิด คือ แลคโตส กลูโคส ซูโครส กรดแอสคอร์บิก กรดยูริก และแป้ง โดยให้มีความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ซึ่งจะเตรียมได้ ดังแสดงในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 แสดงการเตรียมสารอื่นๆ สามารถบวกรวมการวิเคราะห์ห่อะมีอกซีซิลลินที่ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ผสมกับสารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ โดยมีปริมาตรสุดท้าย 200 ไมโครลิตร

ชื่อสาร	ความเข้มข้น (มิลลิโมลาร์)	น้ำหนักที่ชั่ง (กรัม)
แลคโตส	5	0.0171
กลูโคส	5	0.0090
ซูโครส	5	0.0171
กรดแอสคอร์บิก	5	0.0088
กรดยูริก	5	0.0084
แป้ง	5	0.0100

2. จากนั้นนำมาเตรียมเหมือนข้อ 2.3.3 จะได้สารอื่นๆ ที่สามารถบวกรวมการวิเคราะห์ห่อะมีอกซีซิลลินความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ แล้วนำสารละลายที่ได้มาเตรียมตามข้อ 2.3.5 จะได้สารอื่นๆ ที่สามารถบวกรวมการวิเคราะห์ห่อะมีอกซีซิลลินความเข้มข้น 15 ไมโครโมลาร์ ดังแสดงในตารางที่ 2.2

2.3.7 การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์อะม็อกซิซิลลินในตัวอย่างยา 3 ตัวอย่าง คือ MOXIMED Starmox และ Fleming

วิธีการเตรียมตัวอย่างยาประกอบไปด้วย

1. ตัวอย่างยา 500 มิลลิกรัม (สำหรับ MOXIMED และ Starmox) ที่มีลักษณะเป็นแคปซูลและ 875 มิลลิกรัม (สำหรับ Fleming)
2. นำผงละเอียดสีขาวในแคปซูลมาละลายด้วยน้ำ 20 มิลลิลิตร ในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำไป sonicate 15 นาที
3. นำมาปรับปริมาตรด้วยน้ำให้ครบ 50 มิลลิลิตร แล้วกรองด้วย Filter ขนาด 0.45 ไมโครโมลาร์
4. นำสารละลายที่ได้มาละลายโมเลกุลด้วยขั้นตอนข้อ 2.3.3

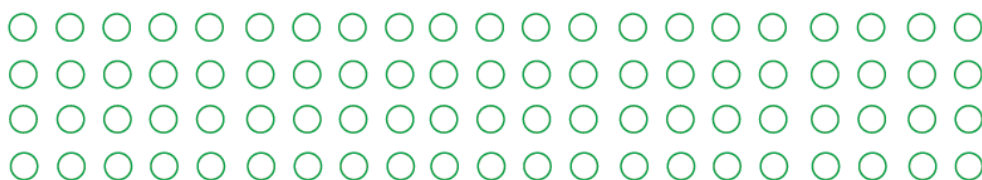
2.4 การศึกษาการเกิดปฏิกิริยาเชิงสีของอะม็อกซิซิลลินด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรสโกปี

โดยมีลำดับการตรวจวัดดังนี้

1. ใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่ pH 3 เป็น blank solution นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 300 ถึง 800 นาโนเมตร
2. วัดอนุภาคนาโนของเงินสีชมพูที่ความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ในคิวเวทท์ (Cuvette) เป็นเวลา 1 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 300 ถึง 800 นาโนเมตร ด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์
3. เตรียมสารละลายอะม็อกซิซิลลินที่ไม่ได้สลายโมเลกุลที่ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 โมลาร์ นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 300 ถึง 800 นาโนเมตร ด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์
4. เตรียมสารละลายอะม็อกซิซิลลินจากกระบวนการสลายโมเลกุลที่ความเข้มข้น 50-150 ไมโครโมลาร์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 โมลาร์ นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 300 ถึง 800 นาโนเมตร ด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์

2.5 การเตรียมอุปกรณ์ฐานกระดาษ

1. ออกแบบรูปแบบอุปกรณ์ฐานกระดาษด้วยโปรแกรม Adobe ILLUstrator CS6 โดยกำหนดให้ส่วนที่เป็น ชี้ผึ้ง (wax) มีลักษณะเป็นวงกลมสีเขียว เส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร แสดงดังรูปที่ 2.2
2. นำแบบไปพิมพ์ลงบนกระดาษกรอง (Filter paper Whatman no.1) ด้วยเครื่องพิมพ์สกรีนด้วยชี้ผึ้ง
3. นำอุปกรณ์ฐานกระดาษที่ได้ไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 185 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 วินาที เพื่อให้ชี้ผึ้งละลายเข้าสู่เส้นใยกระดาษ
4. ตัดเทปกาวบริเวณด้านหลังของกระดาษให้แน่น แสดงดังรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.2 การออกแบบอุปกรณ์ฐานกระดาษ

1. design layout



2. print devices



3. reflow wax



รูปที่ 2.3 ขั้นตอนการเตรียมอุปกรณ์ฐานกระดาษ

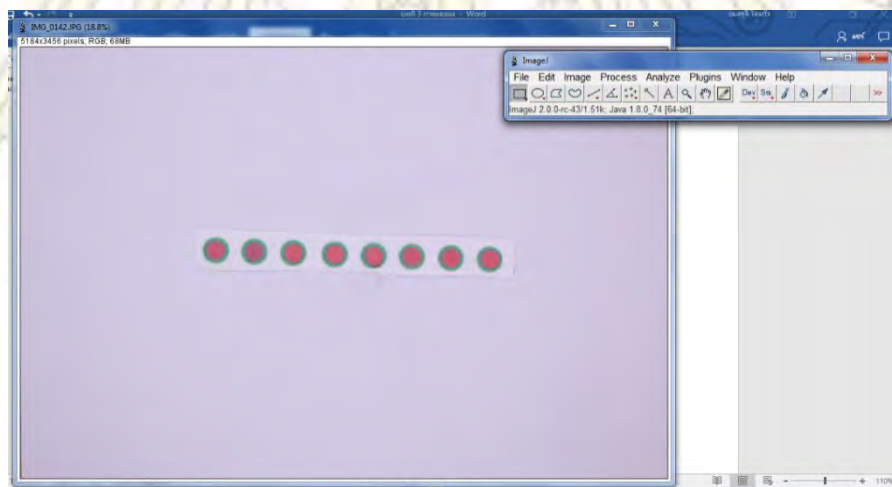
2.6 วิธีการตรวจวัดอะม็อกซีซิลลินบนอุปกรณ์ฐานกระดาษ

1. หยดสารละลายผสมอะม็อกซีซิลลินจากกระบวนการสลายโมเลกุลความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 10 ไมโครลิตร
2. หยดอนุภาคนาโนของเงินความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตร
3. จากนั้นผสมสารให้เข้ากันและรอสารทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 1 นาที แล้วถ่ายภาพด้วยกล้องดิจิทัลในกล่องควบคุมแสงโดยใช้โปรแกรม EOS Utility ในการถ่ายภาพจากเครื่องคอมพิวเตอร์ โดยกำหนดค่าต่างๆ ของกล้องดิจิทัล ดังนี้

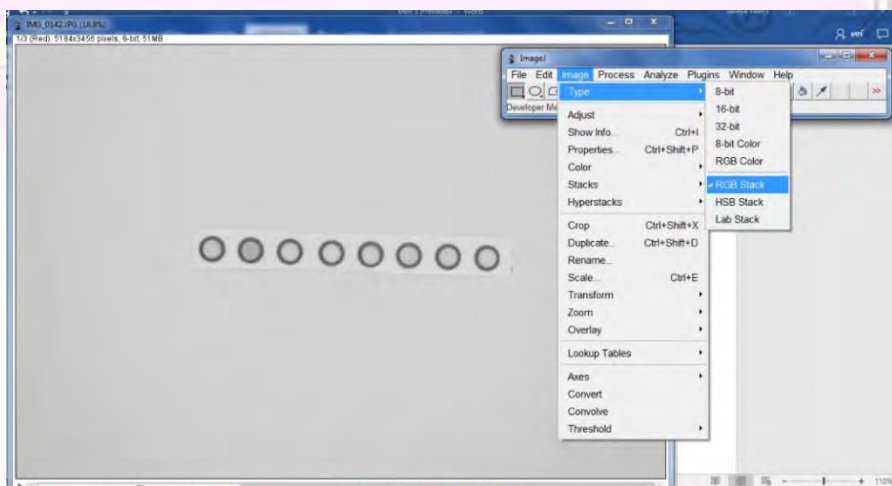
Shutter speed:	1/25
f/no:	f/5.6
ISO:	800
File:	JPEG
White balance:	White fluorescent

4. จะได้รับภาพที่สามารถนำไปตรวจวัดค่าความเข้มสีช่วงสีแดงด้วยโปรแกรม imageJ ดังต่อไปนี้

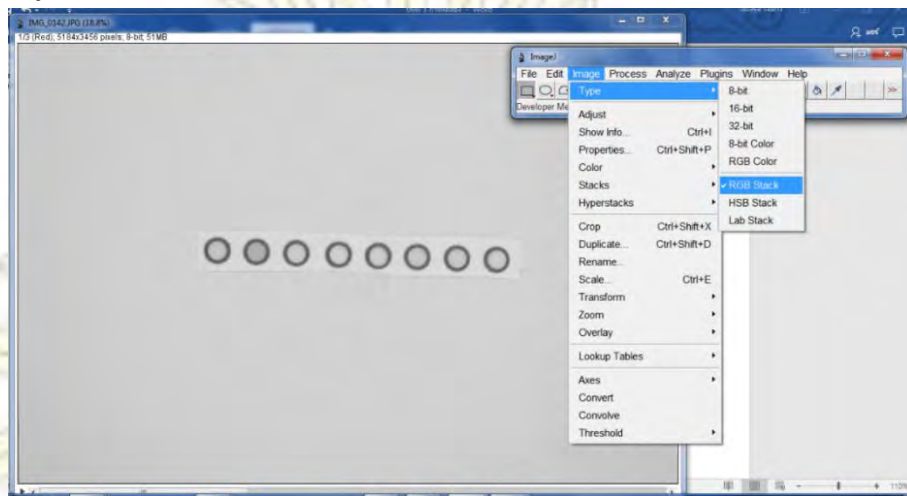
- 4.1 เปิดโปรแกรม imageJ เลือกคำสั่ง File แล้วคลิก Open เพื่อเลือกรูปถ่ายจากโปรแกรม EOS Utility



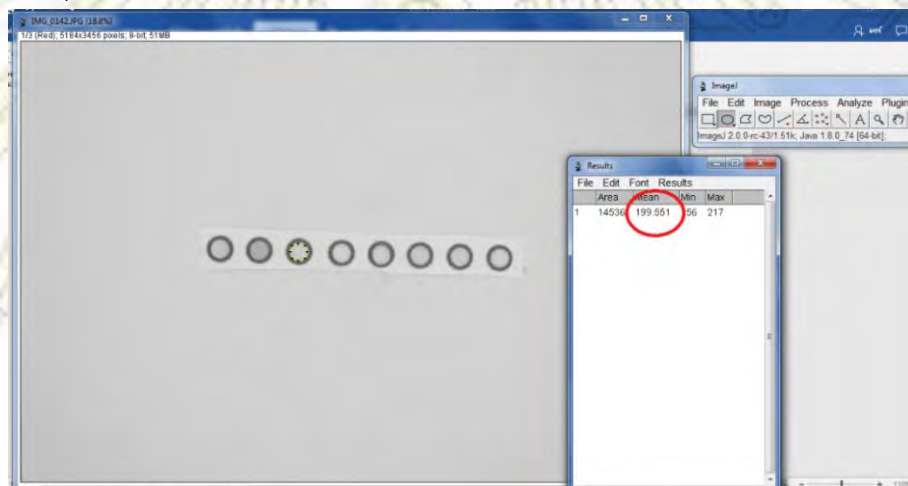
- 4.2 จากนั้นคลิก Image → Type → RGB Stack



2.7 วัดค่าความเข้มสีช่วงสีแดง (Red) โดยคลิกกรุปวงกลมและกำหนดวงกลมให้กว้าง 130 และ ยาว 130 ดังรูป



2.8 กดปุ่ม “M” เพื่อวัดความเข้มสี



2.7 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดอะม็อกซิซิลลินบนอุปกรณ์ฐานกระดาษ

โดยใช้สารละลายอะม็อกซิซิลลินจากกระบวนการสลายโมเลกุลความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ในการตรวจวัด

- การทดสอบหาความเป็นกรด-เบสที่เหมาะสม
- การทดสอบหาขนาดของอนุภาคนาโนของเงินที่เหมาะสม
- การทดสอบหาความเข้มข้นของอนุภาคนาโนของเงินชมพูที่เหมาะสม
- การทดสอบหาปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่เหมาะสม

2.8 การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการตรวจวัดอะม็อกซิซิลลินบนอุปกรณ์ฐานกระดาษ

2.8.1 การศึกษาความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัดอะม็อกซิซิลลินบนอุปกรณ์ฐานกระดาษช่วงความเข้มข้นของอะม็อกซิซิลลิน 10 ถึง 40 ไมโครโมลาร์

2.8.2 การศึกษาขีดจำกัดการตรวจวัดและขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณในการตรวจวัดอะม็อกซิซิลลินบนอุปกรณ์ฐานกระดาษ

2.8.3 ความจำเพาะของวิธีการตรวจวัด

2.8.4 ความเที่ยงของวิธีการตรวจวัด

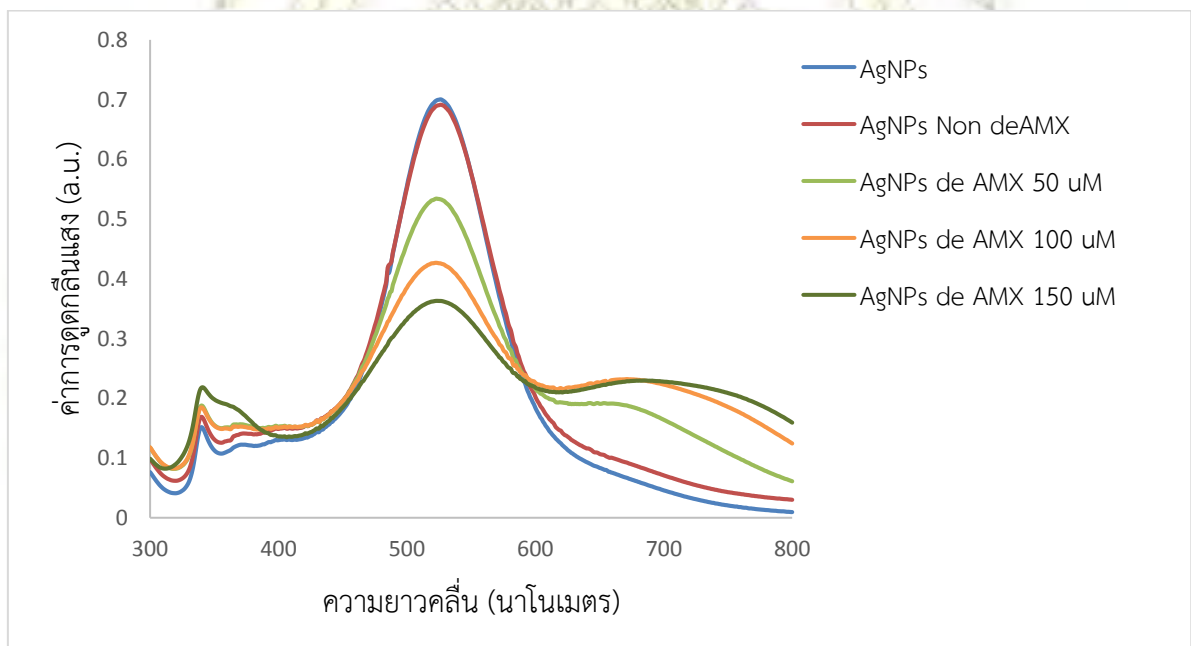
2.8.5 การตรวจวัดอะม็อกซิซิลลินบนอุปกรณ์ฐานกระดาษในตัวอย่างยา

บทที่ 3

ผลการทดลอง

3.1 การศึกษาการเกิดปฏิกิริยาเชิงสีของอะม็อกซิซิลลินด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรสโกปี

ทดสอบสมบัติทางกายภาพและพิสูจน์เอกลักษณ์ของรวมตัวของอนุภาคนาโนของเงินกับอะม็อกซิซิลลินจากกระบวนการสลายโมเลกุล โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 250 ถึง 900 นาโนเมตร ใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่ pH 3 เป็น blank solution จากรูปที่ 3.1 พบว่า สารละลายที่มีอนุภาคนาโนของเงินจะให้ค่าการดูดกลืนสูงสุดที่ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตร ส่วนสารละลายอะม็อกซิซิลลินที่ไม่ได้สลายโมเลกุลที่ผสมอนุภาคนาโนของเงินจะให้ค่าการดูดกลืนสูงสุดที่ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตรเช่นกัน เนื่องจากสารละลายอะม็อกซิซิลลินที่ไม่ผ่านกระบวนการสลายสลายโมเลกุลไม่สามารถเกิดการรวมตัวกับอนุภาคนาโนของเงิน หลังจากอะม็อกซิซิลลินผ่านกระบวนการสลายโมเลกุลด้วยกรดและความร้อนทำให้เกิดการรวมตัวของอนุภาคนาโนของเงินมีขนาดใหญ่ขึ้นและสีเกิดการเปลี่ยนแปลงจากสีชมพูเป็นสีม่วง จะได้สารละลายอะม็อกซิซิลลินจากกระบวนการสลายโมเลกุล ความเข้มข้น 50 100 และ 150 ไมโครโมลาร์ ซึ่งผสมอนุภาคนาโนของเงินจะให้ค่าการดูดกลืนสูงสุดที่ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตร และพบพีคใหม่ที่ความยาวคลื่น 655 นาโนเมตร แสดงให้เห็นว่าสารละลายอะม็อกซิซิลลินจากกระบวนการสลายโมเลกุลเกิดการรวมตัวกับอนุภาคนาโนของเงินและมีขนาดใหญ่ขึ้น สีของสารเปลี่ยนแปลงจากสีชมพูเป็นสีม่วงตามความเข้มข้นของอะม็อกซิซิลลินที่เพิ่มมากขึ้น จึงสามารถตรวจวัดหาปริมาณของอะม็อกซิซิลลินจากการเปลี่ยนแปลงสีได้



รูปที่ 3.1 การดูดกลืนแสงของปฏิกิริยารวมตัวของอนุภาคนาโนของเงินกับอะม็อกซิซิลลิน

โดยที่ AgNPs คือ อนุภาคนาโนของเงิน

AgNPs Non-de AMX คือ สารละลายอะม็อกซิซิลลินที่ไม่ผ่านกระบวนการสลายโมเลกุลที่ผสมอนุภาคนาโนของเงิน

AgNPs de AMX 50 μM คือ สารละลายอะม็อกซิซิลลินที่ไม่ผ่านกระบวนการสลายโมเลกุล ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ ผสมอนุภาคนาโนของเงิน

AgNPs de AMX 100 μM คือ สารละลายอะม็อกซิซิลลินที่ไม่ผ่านกระบวนการสลายโมเลกุล ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ผสมอนุภาคนาโนของเงิน

AgNPs de AMX 150 μM คือ สารละลายอะม็อกซิซิลลินที่ไม่ผ่านกระบวนการสลายโมเลกุล ความเข้มข้น 150 ไมโครโมลาร์ ผสมอนุภาคนาโนของเงิน

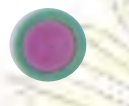
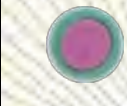


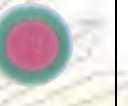
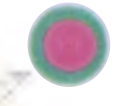
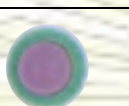
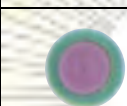
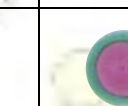

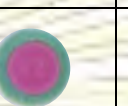

3.2 การหาภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดอะม็อกซิซิลลินบนอุปกรณ์ฐานกระดาษ

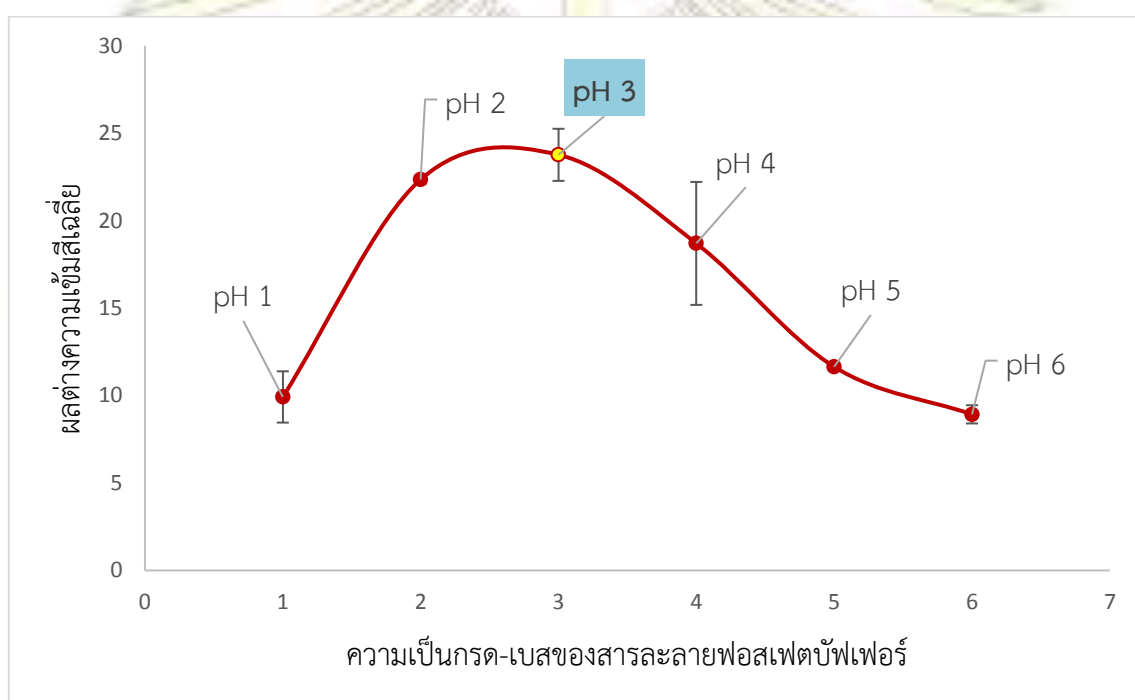
3.2.1 การทดสอบหาความเป็นกรด-เบสที่เหมาะสม

เนื่องจากความเป็นกรด-เบสเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อผลต่างความเข้มสีเฉลี่ยในการตรวจวัดอะม็อกซิซิลลิน โดยใช้ความเป็นกรด-เบสของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่ pH ต่าง ๆ ดังนี้ 1 2 3 4 5 และ 6 โดยการตรวจวัดตรวจวัดอะม็อกซิซิลลินที่ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ผลต่างความเข้มสีเฉลี่ยที่เกิดขึ้นแสดงดังตารางที่ 3.1

อะม็อกซิซิลลินเมื่อผ่านกระบวนการสลายโมเลกุลจะได้เป็นเพนิซิลลามีน เพนิซิลลามีนที่ pH นั้น จะอยู่ในรูปประจุบวก ซึ่งทำให้เกิดการรวมตัวกับอนุภาคนาโนของเงินได้ยาก เนื่องจากขาดแรงผลักทางไฟฟ้าสถิต (electrostatic repulsion) และพันธะไฮโดรเจน ทำให้ผลต่างความเข้มสีเฉลี่ยที่ pH 1-2 ต่ำ²² ดังแสดงรูปที่ 3.2 เมื่อเพิ่มความเป็นกรด-เบสที่ pH 3 พบว่าค่าผลต่างความเข้มสีเฉลี่ยได้ค่าสูงสุด เนื่องจากความเป็นกรด-เบสที่ pH 3 เพนิซิลลามีนเป็นได้ทั้งประจุบวกและประจุลบอยู่ในโมเลกุลเดียวกัน (zwitterionic species) ซึ่งสามารถเกิดการรวมตัวกับอนุภาคนาโนของเงินได้ดี และเมื่อความเป็นกรด-เบสที่มากกว่า pH 3 ผลต่างความเข้มสีเฉลี่ยเริ่มลดลง เนื่องจากส่วนที่ความเป็นกรด-เบสสูงนั้นเพนิซิลลามีนจะอยู่ในรูปประจุลบที่ไม่สามารถเกิดการรวมตัวกับอนุภาคนาโนของเงินที่เป็นประจุลบได้ จากการทดสอบนี้จึงเลือกใช้ความเป็นกรด-เบสของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ที่ pH 3

ตารางที่ 3.1 สีของสารบนอุปกรณ์ฐานกระดาษที่ความเป็นกรด-เบสของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ต่างกัน

ความเป็นกรด-เบส	pH 1	pH 2	pH 3	pH 4	pH 5	pH 6
blank						
de AMX 10 μ M						



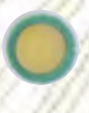
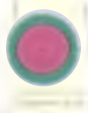
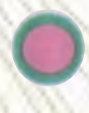


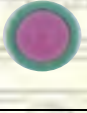
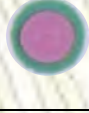
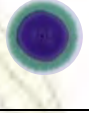
รูปที่ 3.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างความเข้มสีเฉลี่ยกับความเป็นกรด-เบส

3.2.2 การทดสอบหาขนาดของอนุภาคนาโนของเงินที่เหมาะสม

การทดสอบหาขนาดของอนุภาคนาโนของเงิน คือ การหาขนาดของอนุภาคนาโนของเงินที่เหมาะสมที่สุดในการเกิดผลต่างความเข้มสีเฉลี่ยที่ดีที่สุดในการตรวจวัดอะม็อกซิซิลลิน โดยศึกษาอนุภาคนาโนของเงินความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ขนาดหรือสีแตกต่างกัน คือ สีเหลือง (10 นาโนเมตร) สีชมพู (35 นาโนเมตร) สีม่วง (45 นาโนเมตร) และสีน้ำเงิน (50 นาโนเมตร) ทำการตรวจวัดอะม็อกซิซิลลินที่ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ผลต่างความเข้มสีเฉลี่ยที่เกิดขึ้นแสดงดังตารางที่ 3.2

เนื่องจากอนุภาคนาโนของเงินเป็นตัวทำปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดสี (color reagent) และการเกิดสีที่เปลี่ยนแปลงนี้สามารถนำไปตรวจวัดอะม็อกซิซิลลินได้ จากผลการทดสอบพบว่าค่าผลต่างความเข้มสีเฉลี่ยที่อนุภาคนาโนของเงินสีน้ำเงินให้ค่ามากที่สุด ดังแสดงรูปที่ 3.3 แต่เมื่อนำไปใช้ในการทดสอบกับอะม็อกซิซิลลินความเข้มข้นมากกว่า 20 ไมโครโมลาร์ พบว่าผลต่างความเข้มสีเฉลี่ยที่ได้ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง ทำให้ช่วงการตรวจวัดอะม็อกซิซิลลินนั้นน้อยกว่าสีอื่น ๆ ดังนั้นจึงมาพิจารณาขนาดอนุภาคนาโนของเงินที่ให้ค่าผลต่างความเข้มสีเฉลี่ยที่มีค่ามากในลำดับถัดมา คือ อนุภาคนาโนของเงินสีชมพู ซึ่งมีช่วงการตรวจวัดอะม็อกซิซิลลินได้มากกว่าสีน้ำเงิน จากการทดสอบนี้จึงเลือกใช้อนุภาคนาโนของเงินสีชมพูเป็นตัวทำปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดสี

ตารางที่ 3.2 สีของสารบนอุปกรณ์ฐานกระดาษที่ขนาดของอนุภาคนาโนของเงินต่างกัน

ขนาดของอนุภาคนาโนของเงิน	Yellow	Pink	Violet	Blue
blank				
de AMX 10 μ M				















รูปที่ 3.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าผลต่างความเข้มสีเฉลี่ยกับขนาดของอนุภาคนาโนของเงิน

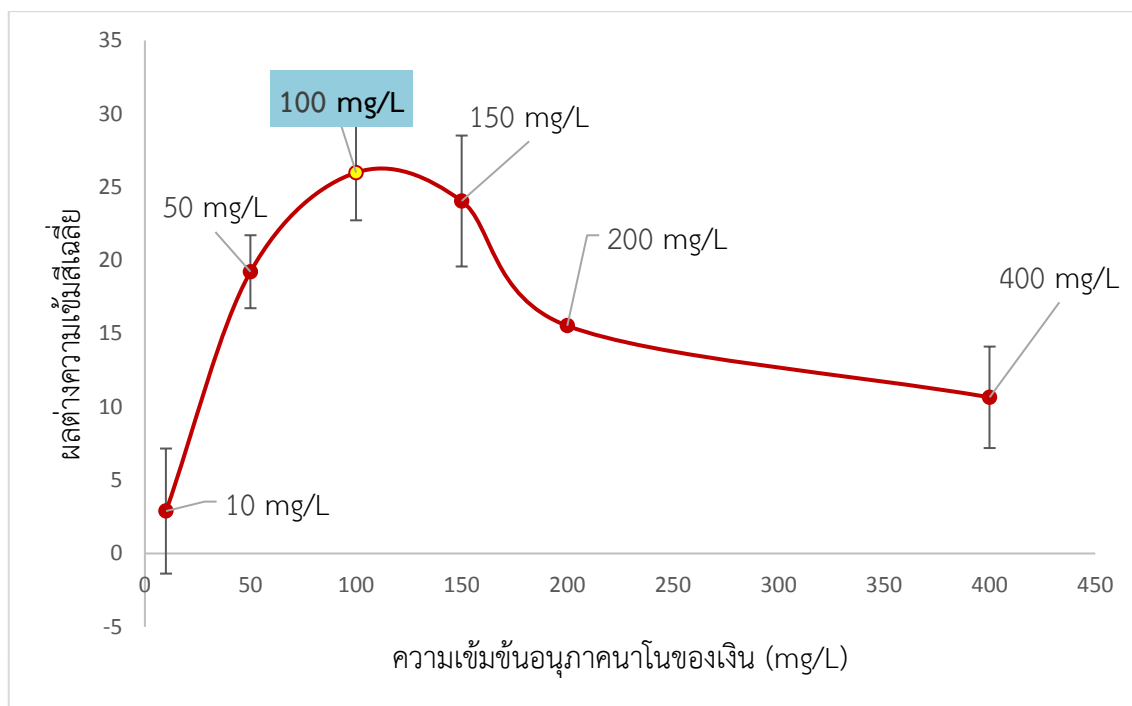
3.2.3 การทดสอบหาความเข้มข้นของอนุภาคนาโนของเงินสีชมพูที่เหมาะสม

การทดสอบหาความเข้มข้นของอนุภาคนาโนของเงินสีชมพู คือ การหาความเข้มข้นของอนุภาคนาโนของเงินสีชมพูที่เหมาะสมที่สุดที่ทำให้เกิดผลต่างความเข้มสีเฉลี่ยที่ดีที่สุดในการตรวจวัดอะม็อกซิซิลลิน โดยศึกษาอนุภาคนาโนของเงินสีชมพูที่ความเข้มข้นแตกต่างกันในช่วง 10 – 400 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการตรวจวัดการตรวจวัดตรวจวัดอะม็อกซิซิลลินที่ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ผลต่างความเข้มสีเฉลี่ยที่เกิดขึ้นแสดงดังตารางที่ 3.3

เนื่องจากอนุภาคนาโนของเงินสีชมพูเป็นตัวทำปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดสี ซึ่งจากผลการทดสอบพบว่า ค่าผลต่างความเข้มสีเฉลี่ยที่ความเข้มข้นของอนุภาคนาโนของเงินสีชมพูเพิ่มขึ้นจนถึงที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ค่าผลต่างความเข้มสีเฉลี่ยมากที่สุด ดังแสดงรูปที่ 3.4 เนื่องจากเป็นความเข้มข้นของอนุภาคนาโนของเงินสีชมพูที่สามารถเกิดการรวมตัวกับอะม็อกซิซิลลินและเกิดสีได้ชัดเจน จากนั้นค่าผลต่างความเข้มสีเฉลี่ยเริ่มลดลงหลังจากความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เพราะสีของอนุภาคนาโนของเงินสีชมพูที่ความเข้มข้นมากขึ้นมีความเข้มมาก ทำให้ยากต่อการเห็นสีที่เปลี่ยนแปลงได้ จากการทดสอบนี้จึงเลือกใช้อนุภาคนาโนของเงินสีชมพูที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นตัวทำปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดสี

ตารางที่ 3.3 สีของสารบนอุปกรณ์ฐานกระดาษที่ความเข้มข้นของอนุภาคนาโนของเงินสีชมพูต่างกัน

ความเข้มข้น อนุภาคนาโนของ เงิน (mg/L)	10	50	100	150	200	400
blank						
de AMX 10 μ M						













รูปที่ 3.4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าผลต่างความเข้มข้นกับความเข้มข้นของยูเรียไนโตรเจน

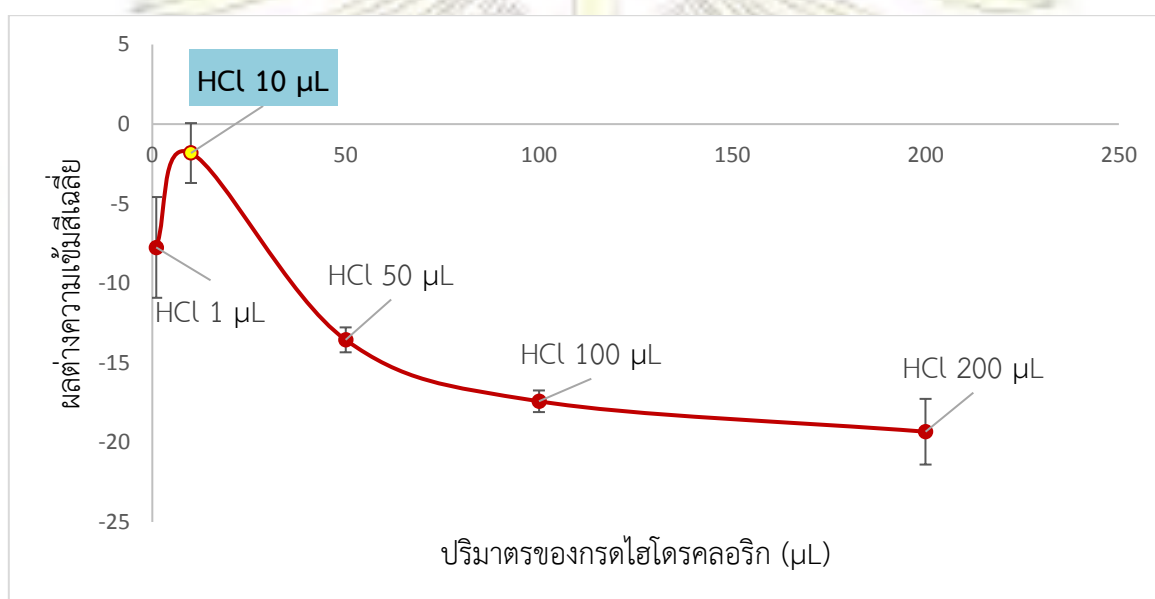
3.2.4 การทดสอบหาปริมาณของกรดไฮโดรคลอริกที่เหมาะสม

การทดสอบหาปริมาณของกรดไฮโดรคลอริก คือ การหาปริมาณของกรดไฮโดรคลอริกที่เหมาะสมที่สุดในขั้นตอนการเตรียมอะมีน็อกซีซิลลินจากกระบวนการสลายโมเลกุลที่ทำให้เกิดผลต่างความเข้มข้นที่ดีที่สุดในการตรวจวัดอะมีน็อกซีซิลลิน โดยศึกษาปริมาณของกรดไฮโดรคลอริกช่วง 1 – 200 ไมโครลิตร ทำการตรวจวัดการตรวจวัดตรวจวัดอะมีน็อกซีซิลลินที่ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ผลต่างความเข้มข้นที่เกิดขึ้นแสดงดังตารางที่ 3.4

เนื่องจากปริมาณของกรดไฮโดรคลอริกมีผลต่อปริมาณของอะมีน็อกซีซิลลินจากกระบวนการสลายโมเลกุล ซึ่งส่งผลต่อการรวมของยูเรียไนโตรเจนและการเปลี่ยนแปลงสีที่ได้ จากผลการทดสอบพบว่าค่าผลต่างความเข้มข้นที่ใช้ปริมาณของกรดไฮโดรคลอริกจะเพิ่มขึ้นจนถึงปริมาณ 10 ไมโครลิตร และเป็นปริมาณการใช้กรดไฮโดรคลอริกที่ให้ค่าผลต่างความเข้มข้นที่ดีที่สุด ดังแสดงรูปที่ 3.5 แล้วค่าผลต่างความเข้มข้นที่ใช้ปริมาณของกรดไฮโดรคลอริกมากกว่า 10 ไมโครลิตร ถึง 200 ไมโครลิตร ลดลง เนื่องจากการใช้ปริมาณของกรดไฮโดรคลอริกปริมาณมากขึ้นทำให้ส่งผลต่อการรวมตัวของยูเรียไนโตรเจน โดยที่คลอไรด์ที่มาจากกรดไฮโดรคลอริกนั้นสามารถเกิดปฏิกิริยากับยูเรียไนโตรเจนได้ ทำให้สีเปลี่ยนแปลงไป จากการทดสอบนี้จึงเลือกใช้ปริมาณของกรดไฮโดรคลอริกปริมาณ 10 ไมโครลิตร ในการสลายพันธะของอะมีน็อกซีซิลลิน

ตารางที่ 3.4 สีของสารบนอุปกรณ์ฐานกระดาษที่ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกต่างกัน

ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริก (μL)	1	10	50	100	200
blank					
de AMX 10 μM					



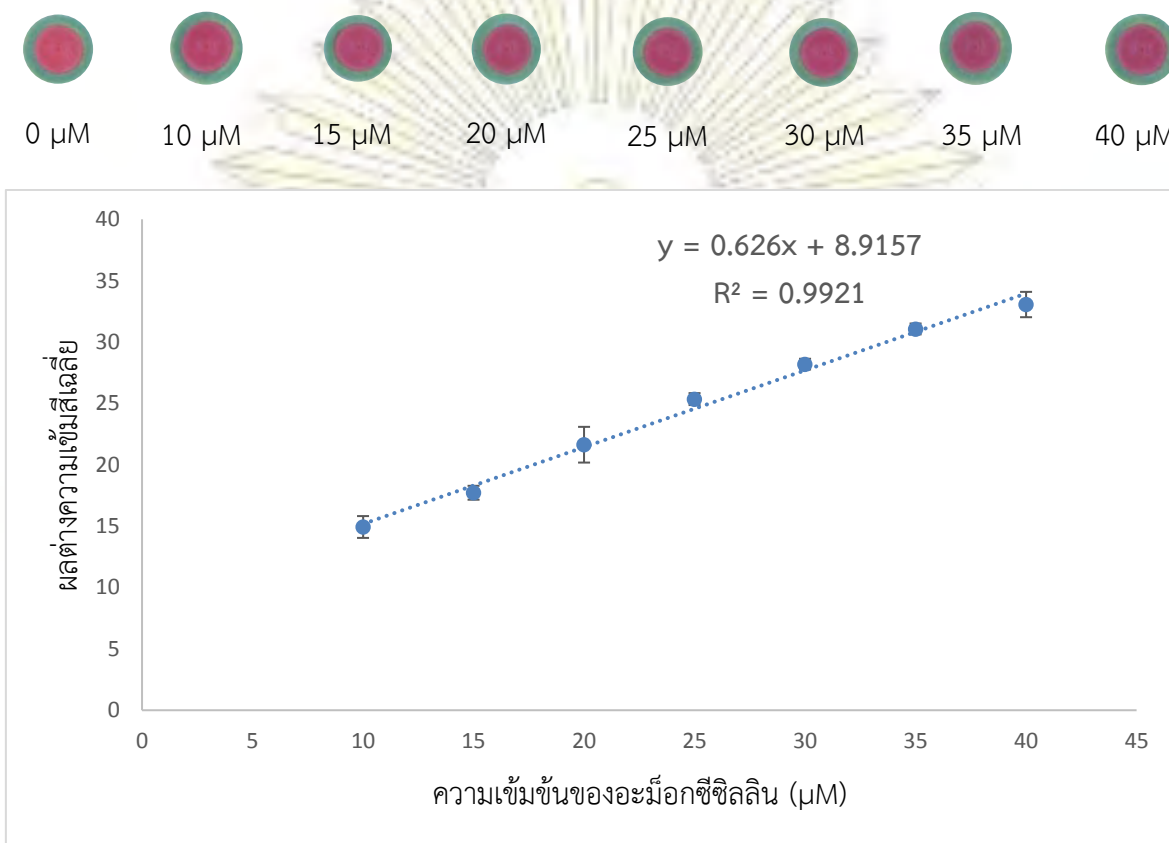
รูปที่ 3.5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างความเข้มสีเฉลี่ยกับปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริก

3.3 การศึกษาประสิทธิภาพของการตรวจวัดอะมีนซีซีลิตินบนอุปกรณ์ฐานกระดาษ

3.3.1 การศึกษาความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัดอะมีนซีซีลิตินบนอุปกรณ์ฐานกระดาษช่วงความเข้มข้นของอะมีนซีซีลิติน 10 ถึง 40 ไมโครโมลาร์

เมื่อได้ภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดอะมีนซีซีลิตินด้วยวิธีการตรวจวัดเชิงสีกับอนุภาคนาโนของเงิน จากนั้นจึงทดสอบหาช่วงความสัมพันธ์เชิงเส้น โดยเตรียมสารมาตรฐานอะมีนซีซีลิตินที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ นำสารมาตรฐานอะมีนซีซีลิตินทุกความเข้มข้นมาตรวจวัดอะมีนซีซีลิตินตามวิธีที่พัฒนาขึ้น โดยตรวจวัดค่าผลต่างความเข้มสีเฉลี่ยเทียบกับความเข้มข้นหน่วยไมโครโมลาร์ ทำซ้ำ 3 ครั้งในแต่ละระดับความเข้มข้น นำค่าเฉลี่ยที่ได้มาสร้างกราฟเส้นตรงโดยใช้ค่าผลต่างความเข้มสีเฉลี่ยเป็นแกน y และปริมาณความเข้มข้นของอะมีนซีซีลิตินเป็นแกน x และคำนวณหาค่า R^2

พบว่าช่วงความสัมพันธ์เชิงเส้นของความเข้มข้นของอะม็อกซิซิลินที่สามารถตรวจวัดได้คือ 10 ไมโครโมลาร์ ถึง 40 ไมโครโมลาร์ ได้กราฟเส้นตรงโดยใช้ค่าผลต่างความเข้มสีเฉลี่ยเป็นแกน y และปริมาณความเข้มข้นของอะม็อกซิซิลินเป็นแกน x จากกราฟเส้นตรงนั้นคำนวณหาค่า R² ได้เท่ากับ 0.9921 ดังแสดงรูปที่ 3.6



รูปที่ 3.6 กราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างความเข้มสีเฉลี่ยกับความเข้มข้นของอะม็อกซิซิลิน

3.3.2 การศึกษาขีดจำกัดการตรวจวัดและขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณในการตรวจวัดอะม็อกซิซิลินบนอุปกรณ์ฐานกระดาษ

จากกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าผลต่างความเข้มสีช่วงสีแดงกับความเข้มข้นของอะม็อกซิซิลินบนกระดาษการสลายโมเลกุล มีสมการเส้นตรงเป็น $y = 0.626x + 8.9157$

หาค่าขีดจำกัดการตรวจวัด หรือ LOD จากสูตร $LOD = \frac{3 \times SD}{\text{slope}}$ (1)

ความชันของกราฟมาตรฐาน = 0.626 (ไมโครโมลาร์)

ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน = 0.28

แทนค่าค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและความชันของกราฟมาตรฐานลงในสมการ (1) จะได้

$$LOD = \frac{3 \times 0.28}{0.626} = 1.34 \text{ ไมโครโมลาร์}$$

ดังนั้นความเข้มข้นของอะม็อกซิซิลลินจากกระบวนการสลายโมเลกุลต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ คือ 1.34 ไมโครโมลาร์

$$\text{หาค่าขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณ หรือ LOQ จากสูตร } \text{LOQ} = \frac{10 \times \text{SD}}{\text{slope}} \quad \dots\dots\dots (2)$$

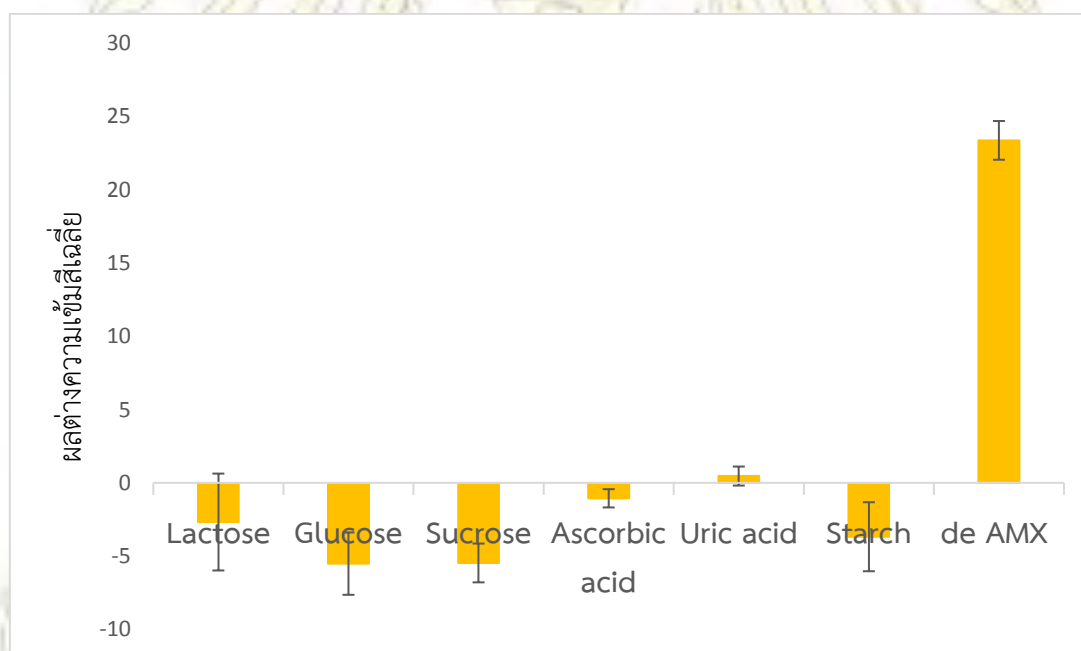
แทนค่าค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและความชันของกราฟมาตรฐานลงในสมการ (2) จะได้

$$\text{LOD} = \frac{10 \times 0.28}{0.626} = 4.47 \text{ ไมโครโมลาร์}$$

ดังนั้นความเข้มข้นของอะม็อกซิซิลลินจากกระบวนการสลายโมเลกุลต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดและรายงานผลเป็นที่ได้ คือ 4.47 ไมโครโมลาร์

3.3.3 ความจำเพาะของวิธีการตรวจวัด

จากทดสอบความจำเพาะของสารโดยใช้อะม็อกซิซิลลินจากกระบวนการสลายโมเลกุลความเข้มข้น 15 ไมโครโมลาร์ และสารอื่นๆ ที่สามารถบวกรวการวิเคราะห์อะม็อกซิซิลลิน ทั้งหมด 6 ชนิด ที่ความเข้มข้น 15 ไมโครโมลาร์ เพื่อตรวจสอบวิธีการตรวจวัดที่พัฒนาขึ้นนี้ตรวจวัดสารเหล่านี้ได้หรือไม่ พบว่าผลต่างความเข้มสีเฉลี่ยของสารอื่นๆ ที่สามารถบวกรวการวิเคราะห์อะม็อกซิซิลลินที่ได้มีค่าต่ำมาก เมื่อเทียบกับผลต่างความเข้มสีเฉลี่ยของอะม็อกซิซิลลินจากกระบวนการสลายโมเลกุลอย่างชัดเจน แสดงว่าการตรวจวัดอะม็อกซิซิลลินด้วยเทคนิคนี้มีความจำเพาะต่ออะม็อกซิซิลลิน ดังแสดงในรูปที่ 3.7

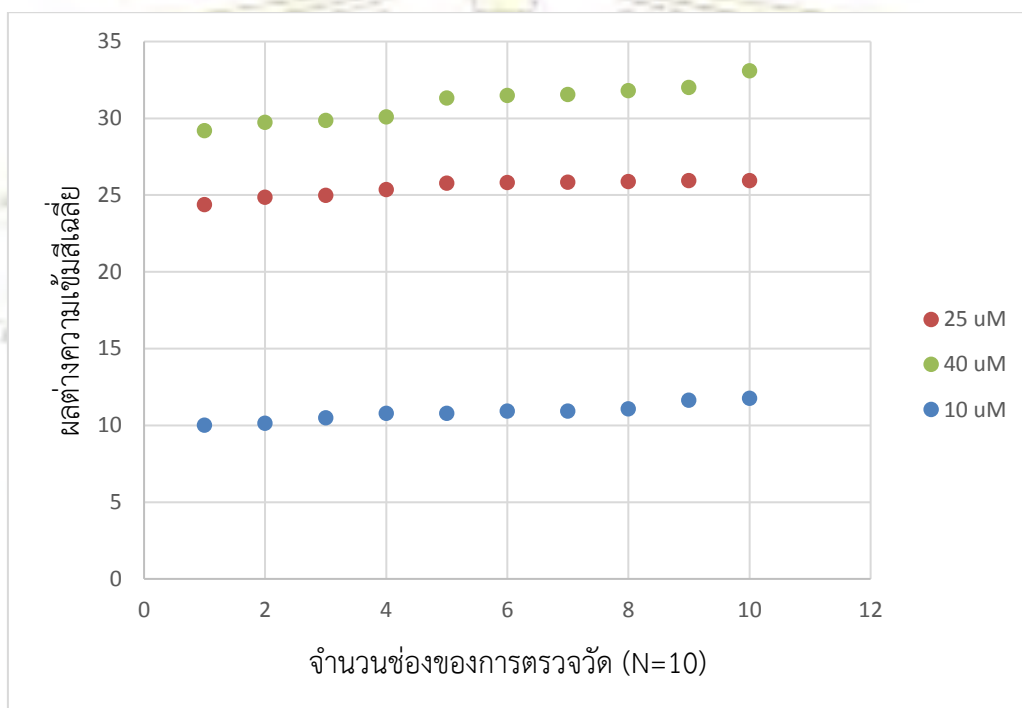


รูปที่ 3.7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างความเข้มสีเฉลี่ยกับสารที่มีอยู่ในยา

3.3.4. ความเที่ยงของวิธีการตรวจวัด

การทดสอบความเที่ยงของการตรวจวัดค่าผลต่างความเข้มข้นของอะม็อกซิซิลินที่ความเข้มข้น 10 25 และ 40 ไมโครโมลาร์ หรือ 3.654 9.135 และ 14.616 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งวัดค่าผลต่างความเข้มข้นของอะม็อกซิซิลินความเข้มข้นละ 10 ค่า ได้ผลการทดลองดังในรูปที่ 3.8 และตารางที่ 3.5

ผลการทดลองพบว่าอะม็อกซิซิลินที่ความเข้มข้น 10 25 และ 40 ไมโครโมลาร์ หรือ 3.654 9.135 และ 14.616 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่า %RSD เท่ากับ 5.22 2.18 และ 3.96% ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าที่ยอมรับได้ ดังนั้นวิธีนี้เป็นวิธีที่มีความเที่ยงในการวิเคราะห์ซ้ำสูง



รูปที่ 3.8 ความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างความเข้มข้นของอะม็อกซิซิลินกับจำนวนครั้งของการตรวจวัด (N=10)

ตารางที่ 3.5 ผลต่างความเข้มข้นเฉลี่ยของอะม็อกซิซิลลินความเข้มข้น 10 25 และ 40 ไมโครโมลาร์

ความเข้มข้นของอะม็อกซิซิลลินและ จำนวนครั้งที่วัด	10 μM	25 μM	40 μM
1	10.014	24.381	29.188
2	10.134	24.862	29.747
3	10.494	24.979	29.867
4	10.781	25.354	30.099
5	10.781	25.785	31.331
6	10.93	25.821	31.482
7	10.931	25.835	31.545
8	11.085	25.884	31.795
9	11.642	25.939	32.007
10	11.772	25.953	33.087
ค่าเฉลี่ย (Average)	10.856	25.479	31.014
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)	0.566	0.556	1.22
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD)	5.22	2.18	3.96

3.3.5 ผลของการหาปริมาณอะม็อกซิซิลลินในตัวอย่างจริง

ตัวอย่างที่เลือกทำการวิเคราะห์ในงานวิจัยนี้ได้แก่ MOXIMED Starmox และ Fleming โดยทำการเก็บตัวอย่างจากร้านขายยาทั่วไป ทำการทดสอบโดยการเติมสารมาตรฐานอะม็อกซิซิลลินลงไปในตัวอย่งที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน และนำมาวิเคราะห์ด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นภายใต้ภาวะที่เหมาะสม ทำการศึกษาความเที่ยงและความแม่นยำของวิธี

จากการวิเคราะห์ปริมาณอะม็อกซิซิลลินในตัวอย่างยา พบว่าเมื่อทำการคำนวณหาค่า %Recovery และค่า %RSD ดังแสดงในตารางที่ 3.6 ค่าที่ได้ค่า %Recovery เฉลี่ยอยู่ในช่วง 89.18 - 118.41 % และ %RSD อยู่ในช่วง 2.99 - 8.96 % จะเห็นได้ว่าค่าที่ได้เป็นค่าที่สามารถยอมรับได้ ดังนั้นวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณอะม็อกซิซิลลินที่พัฒนาขึ้นมานี้ เป็นวิธีที่สามารถตรวจวัดหาปริมาณอะม็อกซิซิลลินในตัวอย่างจริงได้

ตารางที่ 3.6 แสดงค่า %Recovery และค่า %RSD ในการวิเคราะห์ปริมาณอะม็อกซิซิลลินในตัวอย่างยา (n=3)

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานอะม็อกซิซิลลินที่เติม (ไมโครโมลาร์)	ความเข้มข้นอะม็อกซิซิลลินที่ตรวจพบ (ไมโครโมลาร์)	Intra-day	
			ค่าเฉลี่ย %Recovery ($\bar{X} \pm SD$)	RSD (%)
Starmox	5.00	5.84±1.75	116.79±3.50	2.99
	15.00	14.01±0.66	93.43± 4.42	4.73
	20.00	18.88± 1.68	94.42±8.39	8.89
Fleming	5.00	5.92±0.53	118.41±10.61	8.96
	15.00	15.42±0.62	102.77±4.14	4.03
	20.00	17.84±0.76	89.18±3.81	4.28
Moximed	5.00	4.46±1.93	89.29±38.60	4.23
	15.00	15.41±2.70	102.72±17.99	7.51
	20.00	18.35±2.41	91.73±12.06	3.15

3.3.6 ผลของการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ระหว่างวิธีที่พัฒนาขึ้นกับค่าฉลากข้างขวด

ผลของการทดสอบเปรียบเทียบผลที่ได้จากการวิเคราะห์ระหว่างวิธีที่พัฒนาขึ้นกับค่าฉลากข้างขวดโดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างจริง ได้แก่ MOXIMED Starmox และ Fleming

พบที่ได้รับการทดสอบความแตกต่างแบบจับคู่ (Paired t-Test) เป็นการทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างตัวอย่าง 2 กลุ่มเมื่อข้อมูลตัวอย่างที่ใช้ทดสอบมีความสัมพันธ์กันคือ กลุ่มแรกเป็นการวิเคราะห์ห่ออะม็อกซิซิลลินในตัวอย่างจริงจากวิธีที่พัฒนาขึ้น และกลุ่มที่สองเป็นค่าฉลากข้างขวดของยาอะม็อกซิซิลลิน เมื่อทำการคำนวณหาค่าพิจารณาค่าความแตกต่างแบบจับคู่พบว่า P-value [$P(T<=t)$ two-tail] = 0.63 มีค่ามากกว่า 0.05 หรือพิจารณาจากค่า t Stat = 0.5544 ซึ่งน้อยกว่าค่า t Critical two-tail = 2.9199 ดังนั้นจึงสรุปว่าค่าเฉลี่ยของผลของทั้ง 2 วิธี ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 3.7 แสดงการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ระหว่างวิธีที่พัฒนาขึ้นกับค่าฉลากข้างขวด (n=3)

	วิธีที่พัฒนาขึ้น (มิลลิกรัมต่อเม็ด)	ค่าฉลากข้างขวด (มิลลิกรัมต่อเม็ด)
Starmox	529.18 ± 5.98	500
Fleming	789.08 ± 8.06	800
Moximed	501.46 ± 6.36	500

อุปกรณ์ฐานกระดาษแข็งที่ใช้ในภาคนาโนของเงินในงานวิจัยนี้ สามารถนำไปพัฒนาเพื่อตรวจวัดอะม็อกซิซิลลินในสารตัวอย่างอื่นๆ ซึ่งต้องศึกษาต่อไป

บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

จากการพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดฐานกระดาษเชิงสีที่มีความไวและความจำเพาะเจาะจงสูงโดยใช้อนุภาคนาโนของเงินสำหรับตรวจวัดอะม็อกซิซิลลิน โดยการตรวจวัดอะม็อกซิซิลลินภายใต้ภาวะเหมาะสมดังต่อไปนี้ ความเป็นกรด-เบสของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ที่ pH 3 ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกปริมาตร 10 ไมโครลิตร ในการสลายพันธะของอะม็อกซิซิลลิน อนุภาคนาโนของเงินสีชมพูและอนุภาคนาโนของเงินสีชมพูที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นตัวทำปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดสี

เมื่อได้ภาวะที่เหมาะสมนำมาตรวจวัดหากราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าผลต่างความเข้มสีเฉลี่ยกับความเข้มข้นของอะม็อกซิซิลลินที่อยู่ในช่วงความเข้มข้น 10 ถึง 40 ไมโครโมลาร์ โดยมีค่า $R^2 = 0.9921$ ซึ่งมีขีดจำกัดในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (LOD) ($S/N = 3$) และขีดจำกัดในการวิเคราะห์คุณภาพ (LOQ) ($S/N = 10$) เท่ากับ 1.34 และ 4.47 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ ทดสอบความแม่นยำในการวิเคราะห์ซ้ำที่ความเข้มข้นของอะม็อกซิซิลลินที่ 10, 25 และ 40 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่า %RSD เท่ากับ 5.22, 2.18 และ 3.96 ตามลำดับ

การวิเคราะห์หาปริมาณอะม็อกซิซิลลินในตัวอย่างยา ได้แก่ MOXIMED Starmox และ Fleming พบว่าเมื่อทำการคำนวณหาค่า %Recovery และค่า %RSD ค่าที่ได้คือ ค่า %Recovery เฉลี่ยอยู่ในช่วง 89.18 - 118.41 % และ %RSD อยู่ในช่วง 2.99 - 8.96 % จะเห็นได้ว่าค่าที่ได้เป็นค่าที่สามารถยอมรับได้ จากนั้นทดสอบการเปรียบเทียบผลที่ได้จากการวิเคราะห์ระหว่างวิธีที่พัฒนาขึ้นกับค่าฉลากข้างขวด การทดสอบความแตกต่างแบบจับคู่ (Paired t-Test) สรุปได้ว่าค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ทั้ง 2 วิธี ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ในงานวิจัยการตรวจวัดอะม็อกซิซิลลินด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดฐานกระดาษเชิงสีที่พัฒนาขึ้นนี้จะพบได้ว่าเป็นวิธีการใช้ที่สะดวกและรวดเร็ว ไม่ต้องใช้อุปกรณ์ที่มีความซับซ้อน สามารถใช้แล้วทิ้ง พกพาได้ สามารถใช้วิเคราะห์เชิงปริมาณได้ สามารถตรวจวัดอะม็อกซิซิลลินโดยใช้ปริมาณสารน้อย ได้โดยจะมีความเที่ยงตรงและความแม่นยำสูง ปรากฏจากตัวบวกรวมต่าง ๆ สามารถตรวจวิเคราะห์หาปริมาณอะม็อกซิซิลลินในตัวอย่างจริงได้ โดยทำการเปรียบเทียบกับวิธีฉลากข้างขวดของยา ดังนั้นวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถนำไปใช้ตรวจวัดอะม็อกซิซิลลินในตัวอย่างยาอะม็อกซิซิลลินได้จริง ซึ่งได้ค่าที่ใกล้เคียงกับค่าจริง

เอกสารอ้างอิง

1. “รายละเอียดยา AMOXICILLIN [TRIHYDRATE].”. [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก http://www.yaandyou.net/index_result.php (accessed April 20, 2017)
2. “สารต้านจุลชีพ.”. [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก <https://ctxm.wordpress.com/%E0%B8%AA%E0%B8%B2%E0%B8%A3%E0%B8%95%E0%B9%89%E0%B8%B2%E0%B8%99%E0%B8%88%E0%B8%B8%E0%B8%A5%E0%B8%8A%E0%B8%B5%E0%B8%9E/> (accessed April 20, 2017)
3. Hoizey, G.; Lamiable, D.; Frances, C.; Trenque, T.; Kaltenbach, M.; Denis, J.; Millart, H. Simultaneous Determination of Amoxicillin and Clavulanic Acid in Human Plasma by HPLC with UV Detection. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2002**, *30*, 661-666.
4. Hernandez, M.; Borrull, F.; Calull, M. Determination of Amoxicillin in Plasma Samples by Capillary Electrophoresis. *J. Chromatogr. B.* **1999**, *731*, 309–315.
5. Hasanpour, F.; Ensaf, A. A.; Khayamian, T. Simultaneous Chemiluminescence Determination of Amoxicillin and Clavulanic Acid using Least Squares Support Vector Regression. *Anal. Chim. Acta.* **2010**, *670*, 44-50.
6. Santos, D. P.; Bergamini, M. F.; Zanoni, M. V. B. Voltammetric Sensor for Amoxicillin Determination in Human Urine using Polyglutamic Acid/Glutaraldehyde Film. *Sens. Actuators. B. Chem.* **2008**, *133*, 398-403.
7. “ความพิเศษของโลกนาโน.”. [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก <http://www.il.mahidol.ac.th/e-media/nano/Page/Unit2-5.html> (accessed April 20, 2017)
8. “ไขปริศนา...นาโนเทคโนโลยี.”. [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก <http://www.nano.kmitl.ac.th/index.php> (accessed April 20, 2017)
9. Ferrini, A.; Mannoni, V.; Frances, C.; Carpico, G.; Pellegrini, G. E. Detection and Identification of β -Lactam Residues in Milk Using a Hybrid Biosensor. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 784–788.
10. Martinez, W. A.; Phillips, S. T.; Butte, M. J.; Whitesides, M. G. Patterned Paper as a Platform for Inexpensive, Low-Volume, Portable Bioassays. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 1318–1320.
11. Li, X.; Tian, J.; Nguyen, T.; Shen, W. Paper-Based Microfluidic Devices by Plasma Treatment. *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 9131–9134.
12. Martinez, W. A.; Phillips, S. T.; Butte, M. J.; Whitesides, M. G. Diagnostics for the Developing World Microfluidic Paper-Based Analytical Devices, Portable Bioassays. *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 3–10.

13. “ประโยชน์ที่อาจคาดไม่ถึงของกระดาษ ในการวิเคราะห์สาร.” [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก <http://ost.thaiembdc.org/2016/?p=176> (accessed April 20, 2017)
14. Zhang, M.; Ge, L.; Ge, S.; Yan, M.; Yu, J.; Huang, J.; Liu, S. Three-Dimensional Paper-Based Electrochemiluminescence Device for Simultaneous Detection of Pb^{2+} and Hg^{2+} based on Potential-Control Technique. *Biosens. Bioelectron.* **2013**, *41*, 544–550.
15. Zhang, Y.; Zuo, P.; Ye, B. C. A Low-Cost and Simple Paper-Based Microfluidic Device for Simultaneous Multiplex Determination of Different Types of Chemical Contaminants in Food. *Biosens. Bioelectron.* **2015**, *68*, 4–19.
16. Alkasir, R. S. J.; Rossner, A.; Andreescu, S. Portable Colorimetric Paper-Based Biosensing Device for the Assessment of Bisphenol A in Indoor Dust. *Environ. Sci. Technol.* **2015**, *49*, 9889–9897.
17. Ratnarathorn, N.; Chailapakul, O.; Henry, C. S.; Dungchai, W. Simple Silver Nanoparticle Colorimetric Sensing for Copper by Paper-Based Devices. *Talanta.* **2012**, *99*, 552–557.
18. Peng, J.; Ling, J.; Zhang, X. Q.; Zhang, Y. L.; Cao, Q. E.; Ding, Z. T. A Rapid, Sensitive and Selective Colorimetric Method for Detection of Ascorbic Acid. *Sens. Actuators, B.* **2015**, *221*, 708–716.
19. Tripathy, S. K.; Woo, J. Y.; Han, C. S. Colorimetric Detection of Fe(III) Ions using Label-Free Gold Nanoparticles and Acidic Thiourea Mixture. *Sens. Actuators, B.* **2013**, *181*, 114–118.
20. Kiatkumjorn, T.; Rattanarat, P.; Siangproh, W.; Chailapakul, O.; Praphairaksit, N. Glutathione and L-Cysteinemodified Silvernanoplates-Based Colorimetric Assay for a Simple, Fast, Sensitive and selective Determination of Nickel. *Talanta.* **2014**, *128*, 215–220.
21. Leesutthiphonchai, W.; Dungchai, W.; Siangproh, W.; Ngamrojnavanich, N. Selective Determination of Homocysteine Levels in Human Plasma using a Silver Nanoparticle-based Colorimetric Assay. *Talanta.* **2011**, *85*, 870-87.
22. Akhond, M.; Absalan, G.; Ershadifar, H. Highly Sensitive Colorimetric Determination of Amoxicillin in Pharmaceutical Formulations based on Induced Aggregation of Gold Nanoparticles. *Spectrochim. Acta Part A.* **2015**, *143*, 223–229.
23. “ความพิเศษของโลกนาโน.” [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก <http://comdigest.blogspot.com/2015/10/imagej.html> (accessed April 20, 2017)
24. Ojeda, C. B.; Rojas, F. S. Process Analytical Chemistry: Applications of Ultraviolet/Visible Spectrometry in Environmental Analysis. *Appl. Spectrosc. Rev.* **2009**, *44*, 245-265.

25. “การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ (method validation).” [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก reo06.mnre.go.th/home/images/upload/file/report/Jurairut070509.pdf (accessed April 20, 2017)
26. Hernandez, M.; Borrull, F.; Calull, M. Determination of Amoxicillin in Plasma Samples by Capillary Electrophoresis. *J. Chromatogr. B.* **1999**, *731*, 309–315.
27. Gamba, V. ; Dusi, G. Liquid Chromatography with Fluorescence Detection of Amoxicillin and Ampicillin in Feeds using Pre-column Derivatization. *Anal. Chim. Acta.* **2003**, *483*, 69–72.
28. Li, W.; Tan, F.; Zhao, K. Simultaneous Determination of Amoxicillin and Ranitidine in Rat Plasma by High-performance Liquid Chromatography. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2006**, *41*, 594–598.
29. Li, X.; Tian, J.; Garnier, G.; Shen, W. Fabrication of Paper-Based Microfluidic Sensors by Printing. *Colloids Surf., B.* **2010**, *76*, 564–570.
30. Carrilho, E.; Martinez, A. W.; Whitesides, G. M. Understanding Wax Printing: A Simple Micropatterning Process for Paper-Based Microfluidics. *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 7091–7095.



ภาคผนวก

สูตรอัตราส่วนระหว่าง ซิลเวอร์/ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

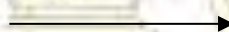
$$\text{อัตราส่วน } R = C_{Ag}V_{Ag}/C_{H_2O_2}V_{H_2O_2}$$

โดยที่ C_{Ag} คือ ความเข้มข้นของซิลเวอร์
 $C_{H_2O_2}$ คือ ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์
 V_{Ag} คือ ปริมาตรของซิลเวอร์
 $V_{H_2O_2}$ คือ ปริมาตรของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

แสดงการเกิดสีจากการรวมตัวของอนุภาคนาโนของเงินสีต่าง ๆ กับอะม็อกซิซิลลินที่มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น

- อนุภาคนาโนของเงินสีเหลือง

de AMX 0 μ M

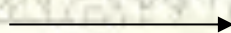


de AMX 40 μ M



- อนุภาคนาโนของเงินสีชมพู

de AMX 0 μ M



de AMX 40 μ M



- อนุภาคนาโนของเงินสีม่วง

de AMX 0 μ M

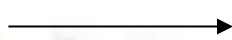


de AMX 40 μ M



- อนุภาคนาโนของเงินสีน้ำเงิน

de AMX 0 μM



de AMX 40 μM



ตารางแสดง Paired t-test ของการวิเคราะห์ตัวอย่างยาระหว่างวิธีที่พัฒนาขึ้นกับค่าฉลากข้างขวด

	วิธีที่พัฒนา	ค่าฉลากข้างขวด
Mean	606.5733	600
Variance	25173.61	30000
Observations	3	3
Observations	0.996177	
Hypothesized Mean		
Difference	0	
df	2	
t Stat	0.554485	
P(T<=t) one-tail	0.317487	
t Critical one-tail	2.919986	
P(T<=t) two-tail	0.634974	
t Critical two-tail	4.302653	

ตารางแสดงค่า Paired t-test

Degree of Freedom	ระดับความน่าเชื่อถือ (%)			
	90	95	99	99.9
1	6.31	12.71	63.66	66.62
2	2.92	4.30	9.93	31.60
3	2.35	3.18	5.84	12.92
4	2.13	2.78	4.60	8.61
5	2.02	2.57	4.03	6.87
6	1.94	2.45	3.71	5.96
7	1.89	2.37	3.50	5.41
8	1.86	2.31	3.36	5.04
9	1.83	2.26	3.25	4.78
10	1.81	2.23	3.17	4.59
11	1.80	2.20	3.11	4.44
12	1.78	2.18	3.06	4.32
13	1.77	2.16	3.01	4.22
14	1.76	2.14	2.98	4.14
15	1.75	2.13	2.95	4.07
16	1.75	2.12	2.92	4.02
17	1.74	2.11	2.90	3.97
18	1.73	2.10	2.88	3.92
19	1.73	2.09	2.86	3.88
20	1.72	2.09	2.85	3.85
infinity	1.65	1.96	2.58	3.29

ตารางแสดงค่าความแม่นยำที่ยอมรับได้

ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ยของ % recovery
100%	98-102
10%	98-102
1%	97-103
0.1%	95-105
100 ppm	90-107
10 ppm	80-110
1 ppm	80-110
100 ppb	80-110
10 ppb	60-115
1 ppb	40-120

ตารางแสดงค่าความเที่ยงที่ยอมรับได้

ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ยของ % RSD
100%	± 1.3
10%	± 2.7
1%	± 2.8
0.1%	± 3.7
100 ppm	± 5.3
10 ppm	± 7.3
1 ppm	± 11
100 ppb	± 15
10 ppb	± 21
1 ppb	± 30

ประวัติผู้วิจัย

นางสาวอมรจุใจ แก้ว เกิดเมื่อวันที่ 18 เดือนสิงหาคม พ.ศ. 2537 ที่จังหวัดน่าน สำเร็จการศึกษา
ชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนสตรีศรีน่าน จังหวัดน่าน เมื่อปีการศึกษา 2556 เข้าศึกษาต่อใน
หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา
2556 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 27 ตำบลน้ำบัว อำเภอเวียงสา จังหวัดน่าน รหัสไปรษณีย์ 55110
อีเมล amy_collon@hotmail.com

