

อนุภาคนาโนทอง: การสังเคราะห์และการประยุกต์สำหรับการวิเคราะห์ทางเคมี

Gold Nanoparticles: Synthesis and Applications for Chemical Analysis

ศิริวรรณ ตี๋ภู¹Siriwan Teepoo¹

Received: 21 March 2012 ;Accepted: 25 May 2012

บทคัดย่อ

ปัจจุบันได้มีการพัฒนาและประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนทองสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณสารเคมีและสารชีวภาพ ทั้งนี้เพราะอนุภาคนาโนทองมีสมบัติเด่นทางกายภาพและทางเคมี การนำเอาอนุภาคนาโนทองมาประยุกต์ใช้สำหรับการวิเคราะห์ทางเคมีทำให้สามารถวิเคราะห์หาปริมาณสารต่างๆ ที่สนใจได้รวดเร็วและง่าย บทความนี้จะกล่าวถึงการสังเคราะห์และอธิบายลักษณะเฉพาะของอนุภาคนาโนทอง รวมถึงยกตัวอย่างการประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนทองเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารทั้งทางด้านสิ่งแวดล้อม อาหารและการแพทย์

คำสำคัญ: อนุภาคนาโนทอง การสังเคราะห์ การวิเคราะห์ทางเคมี สิ่งแวดล้อม อาหาร การแพทย์

Abstract

Recently, gold nanoparticles (AuNPs) have been developed and widely used in chemical and biological analysis because they have unique physical and chemical properties. The AuNPs based assays have been applied for detecting interested samples with rapidity and simplicity. This review discussed the synthesis and characterization of AuNPs. In addition, this article summarized their applications for detection in the environment, food and medicine.

Keywords: gold nanoparticles, synthesis, chemical analysis, environment, food, medicine

บทนำ

การวิเคราะห์ทางเคมีเป็นกระบวนการทางเคมีวิเคราะห์เพื่อวิเคราะห์หาองค์ประกอบและปริมาณของธาตุหรือสารที่สนใจในตัวอย่าง ปัจจุบันการวิเคราะห์ทางเคมีมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง ทั้งทางด้านอุตสาหกรรมอาหาร เช่นการวิเคราะห์หาแอฟฟาทอกซิน เอ็ม 1 ในตัวอย่างนม¹ ด้านสิ่งแวดล้อม เช่นการวิเคราะห์หายาฆ่าแมลงในน้ำ² และทางการแพทย์ เช่นการวิเคราะห์หาสารบ่งชี้มะเร็งระดับโมเลกุลในเลือดในทางการแพทย์ เพื่อใช้ในการวินิจฉัย รักษา และติดตามอาการของโรค³ เป็นต้น ดังนั้นวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์จะต้องมีความถูกต้อง มีความไววิเคราะห์สูงและให้ผลวิเคราะห์รวดเร็ว จึงทำให้มีงานวิจัยที่สนใจจะพัฒนาวิธีวิเคราะห์ เพื่อ

สามารถตรวจหาสารที่สนใจโดยนำเอานวัตกรรมทางนาโนเทคโนโลยีมาประยุกต์ใช้ร่วมกับการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ทางเคมี นาโนเทคโนโลยีเป็นศาสตร์ที่ว่าด้วยการจัดการ การสร้าง การควบคุม การสังเคราะห์วัสดุให้มีขนาด 1-100 นาโนเมตร⁴ เมื่อวัสดุนั้นมีขนาดเล็กจนถึงระดับนาโนเมตร ทำให้วัสดุนั้นมีสมบัติเด่นขึ้นทั้งทางด้านกายภาพและทางเคมี อนุภาคนาโนทอง (Gold nanoparticles) เป็นผลผลิตหนึ่งที่ได้จากนวัตกรรมทางนาโนเทคโนโลยี ที่เข้ามามีบทบาทในงานด้านเคมีวิเคราะห์ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ ในบทความนี้จะกล่าวถึงวิธีการสังเคราะห์และการประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนทองสำหรับการวิเคราะห์ทางเคมีในด้านต่างๆ

¹ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี อ.ธัญบุรี จ.ปทุมธานี 12110

¹ Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Pathum Thani 12110.

* E-mail: siriwan@mail.rmutt.ac.th

อนุภาคนาโนทอง

อนุภาคนาโนทอง เป็นอนุภาคทองที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นมาจากโลหะทองให้มีขนาดเล็กในระดับนาโนเมตร ทำให้อนุภาคนาโนทองมีสมบัติทางกายภาพและทางเคมีที่แตกต่างไปจากทองปกติ เช่น มีอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ผิวต่อปริมาตรสูง ช่วยในการเร่งปฏิกิริยาเคมี นำไฟฟ้าได้ดี และมีสีที่เปลี่ยนตามขนาดของอนุภาค⁵ จากข้อดีต่างๆ ของอนุภาคนาโนทอง ทำให้สามารถประยุกต์ใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งนำมาประยุกต์ใช้ทางด้านการวิเคราะห์ทางเคมี เพื่อวิเคราะห์หาสารที่สนใจ

การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง

การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองให้มีขนาดในช่วง 1-100 นาโนเมตร มีสองแบบหลักคือแบบ Top-down และแบบ Bottom-up ดังรูปที่ 1

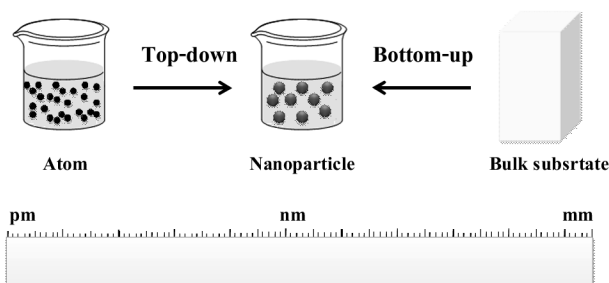


Figure 1 Synthesis of gold nanoparticles based on Top-down and Bottom-up

แบบ Top-down เป็นการสร้างจากระดับบนลงล่าง หรือจากขนาดใหญ่ให้เป็นขนาดเล็ก โดยการตัดแบ่งวัตถุขนาดใหญ่ให้เล็กลงจนถึงระดับนาโนเมตรด้วยแรงภายนอก โดยใช้เทคนิคต่างๆ เช่น LASER ablation หรือ ion irradiation แต่พบว่าวิธีนี้มีข้อจำกัดคือควบคุมขนาดและรูปร่างของอนุภาคได้ยาก⁶

สำหรับการสังเคราะห์แบบ Bottom-up เป็นการสังเคราะห์โดยเริ่มต้นจากการเรียงอะตอมแต่ละอะตอมประกอบขึ้นเป็นอนุภาคจนมีขนาดนาโนเมตร ด้วยวิธีต่างๆ ทางเคมี เช่นอาศัยหลักการเกิดปฏิกิริยารีดักชันของสารละลาย chloroauric acid (HAuCl_4 ; Au^{3+}) โดยใช้ตัวรีดิวซ์ เช่น sodium borohydride หรือ trisodium citrate⁷ เพื่อเปลี่ยนไอออนของทอง (Au^{3+}) เป็นอะตอมของทอง (Au^0) จากนั้นอะตอมทองรวมตัวกันหลายๆ อะตอมจนกลายเป็นอนุภาคนาโนทองที่มีขนาดระดับนาโนเมตร ซึ่งมีลักษณะเป็นคอลลอยด์ที่มีของแข็งขนาดนาโนเมตรแขวนลอยอยู่ในสารละลาย (รูปที่ 2)



Figure 2 Photograph of gold nanoparticles

Source: http://en.wikipedia.org/wiki/Colloidal_gold⁸

ในปัจจุบันการสังเคราะห์แบบ Bottom-up นิยมใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองมากกว่าแบบ Top-down เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย สามารถควบคุมขนาดและรูปร่างของอนุภาคได้ง่าย

การตรวจสอบคุณลักษณะของอนุภาคนาโนทอง

เนื่องจากอนุภาคที่มีขนาดระดับนาโนเมตรไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ดังนั้นจึงต้องอาศัยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Electron microscopes) ที่มีกำลังขยายสูง เช่น กล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน (Transmission electron microscope; TEM) รูปที่ 3 แสดงอนุภาคนาโนทองขนาดเฉลี่ย 6 นาโนเมตร ที่ถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่านกำลังขยาย 200 kV⁹

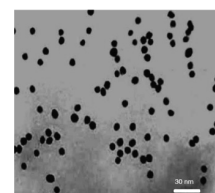


Figure 3 TEM image of gold colloid

Source: Wang *et al.*⁹

นอกจากนี้การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองโดยอาศัยปฏิกิริยารีดักชันพบว่าสามารถควบคุมขนาดของอนุภาคได้โดยปัจจัยต่างๆ เช่น ความเข้มข้นของสารละลาย chloroauric acid ชนิดและความเข้มข้นของตัวรีดิวซ์ อุณหภูมิ และสารลดแรงตึงผิว เป็นต้น⁵ ตัวอย่างเช่น การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองให้มีขนาดต่างๆ โดยการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของตัวรีดิวซ์คือ trisodium citrate โดยใช้สารละลาย chloroauric acid ที่มีความเข้มข้นคงที่ ผลการทดลองพบว่าเมื่อความเข้มข้นของ trisodium citrate เพิ่มขึ้น ทำให้อัตราการเกิดอนุภาคนาโนทองเล็กลง เพราะเมื่อความเข้มข้นของ trisodium citrate

เพิ่มขึ้นส่งผลให้เกิดปฏิกิริยารีดักชันได้เร็วและสมบูรณ์ จึงได้อนุภาคที่มีขนาดเล็ก¹⁰ ในทางตรงกันข้ามเมื่อความเข้มข้นของ trisodium citrate ลดลงอัตราการปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นไม่สมบูรณ์ และใช้เวลาในการเกิดปฏิกิริยานาน ทำให้อะตอมทองที่เกิดขึ้นรวมตัวกันเป็นกลุ่มใหญ่ขึ้น ขนาดอนุภาคนาโนทองที่ได้จึงมีขนาดใหญ่ ดังรูปที่ 4

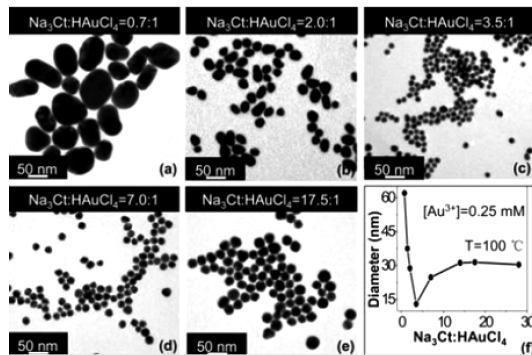


Figure 4 TEM images and the average sizes of gold nanoparticles synthesized for various citrate concentration

Source: Ji *et al.*¹⁰

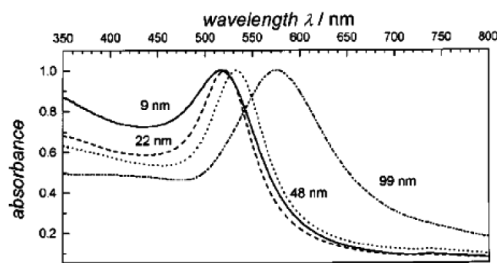


Figure 5 Influence of the gold nanoparticles size on the absorbance response

Source: Link, and El-Sayed¹¹

การตรวจสอบคุณลักษณะของอนุภาคนาโนทอง นอกจากจะใช้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่านแล้ว ยังสามารถตรวจสอบคุณลักษณะของอนุภาคนาโนทองได้ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) ทองคำเมื่ออยู่ในรูปก้อนขนาดใหญ่จะมีสีเหลือง เนื่องจากทองคำดูดกลืนแสงสีน้ำเงิน ทำให้เราเห็นทองคำเป็นสีเหลือง แต่ถ้าทองถูกทำให้มีขนาดเล็กลงไปเรื่อย ๆ จนมีขนาดอนุภาคเล็กกว่าความยาวคลื่นแสงที่มากกระทบมา ๆ ทำให้อนุภาคนาโนทองเปลี่ยนความยาวคลื่นที่ดูดกลืนไปเป็นดูดกลืนแสงสีเขียว ที่ความยาวคลื่นประมาณ 500 นาโนเมตร ทำให้เห็นอนุภาคนาโนทองเป็นสีแดง¹¹ ความยาวคลื่นของการดูดกลืนแสงขึ้นกับขนาดของอนุภาคนาโนทอง ทั้งนี้เพราะอนุภาคนาโนทองขนาดต่างกันจะให้สีที่ต่างกัน อนุภาคนาโนทองขนาดเล็ก

จะดูดกลืนความยาวคลื่นแสงในช่วงความยาวคลื่นสั้น ทำให้เห็นอนุภาคนาโนทองเป็นสีแดงเข้ม แต่เมื่ออนุภาคนาโนทองมีขนาดใหญ่ขึ้น อนุภาคนาโนทองจะดูดกลืนความยาวคลื่นแสงในช่วงความยาวคลื่นยาวขึ้น สีที่เห็นจึงเปลี่ยนเป็นสีม่วงและน้ำเงินตามขนาดของอนุภาคนาโนทองที่เพิ่มขึ้นตามลำดับ¹¹ ดังรูปที่ 5

การประยุกต์สำหรับการวิเคราะห์ทางเคมี

การที่อนุภาคนาโนทองมีขนาดระดับนาโนเมตร จะทำให้อนุภาคนาโนทองมีข้อดีคือ มีพื้นที่ผิวต่อปริมาตรสูง เปลี่ยนสีตามขนาดของอนุภาค ช่วยเร่งปฏิกิริยาเคมีจากข้อดีดังกล่าวทำให้ในปัจจุบันได้มีการนำอนุภาคนาโนทองมาประยุกต์สำหรับงานด้านเคมีวิเคราะห์ เพื่อวิเคราะห์หาสารต่างๆ ทั้งด้านสิ่งแวดล้อม อาหารและการแพทย์

ด้านสิ่งแวดล้อม

ปรอทเป็นสารอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต การเกิดพิษจากสารปรอทมีทั้งชนิดเฉียบพลันและเรื้อรัง เมื่อร่างกายได้รับปรอทสะสมเป็นเวลานานๆ จะไปทำอันตรายต่อระบบประสาทส่วนกลาง ซึ่งได้แก่ สมอง และไขสันหลัง เป็นต้น วิธีตรวจหาปรอทที่ใช้ทั่วไปเช่น อะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรสโกปี (Atomic absorption spectroscopy)¹² แต่พบว่าวิธีดังกล่าวต้องมีขั้นตอนเตรียมตัวอย่างที่ซับซ้อน จึงได้ประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนทองเพื่อวิเคราะห์หาปรอทโดยใช้เครื่องฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรโฟโตมิเตอร์¹² (Fluorescence spectrophotometer) ดังรูปที่ 6a โดยใช้อนุภาคนาโนทองขนาด 13 นาโนเมตรปรับปรุงผิวหน้าอนุภาคนาโนทองด้วย rhodamine B (RB), mercaptopropionic acid (MPA) และ 2,6-pyridinedicarboxylic acid (PDCA) เมื่อให้พลังงานกระตุ้นที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ถ้าในสารละลายไม่มีปรอท จะไม่สามารถเกิดการเรืองแสง (Fluorescence) แต่ถ้ามีปรอทอยู่ในสารละลาย ก็จะทำให้เกิดการเรืองแสงขึ้น เพราะปรอทเป็นตัวช่วยให้เกิดการเรืองแสงได้ ดังนั้นเมื่อความเข้มข้นของปรอทเพิ่มขึ้นก็จะทำให้เกิดการเรืองแสงได้มากขึ้น (รูปที่ 6b) จึงใช้หลักการนี้เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณปรอทในตัวอย่างที่ตกค้างในสิ่งแวดล้อมได้

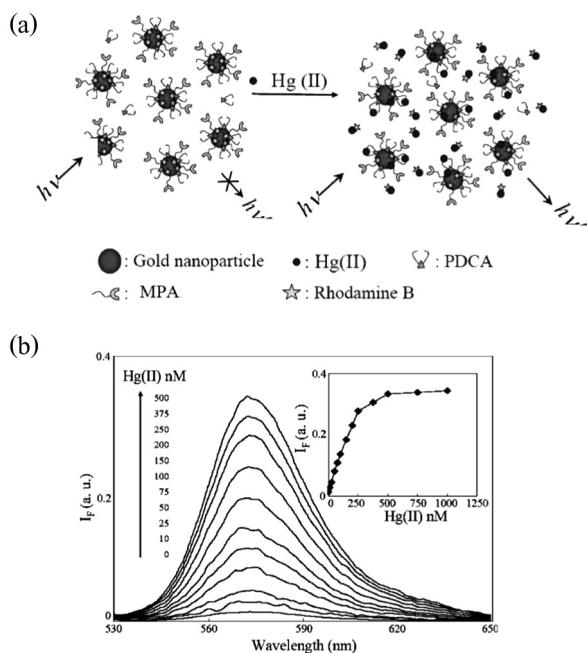


Figure 6 (a) The detection of mercury(II) based on gold nanoparticles sensor (b) Fluorescence response of RB-AuNP-MPA upon addition of Hg(II) ions at different concentrations. Inset: Fluorescence intensity (575 nm) versus Hg(II) concentration.

Source: Huang and Chang¹²

ด้านอาหาร

เมลามีน (Melamine) เป็นสารที่มีปริมาณไนโตรเจนสูง ประมาณ 60% โดยมวล จึงทำให้ผู้ผลิตบางรายลักลอบเติมเมลามีนลงในผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ เช่นนมผง เพื่อเพิ่มปริมาณไนโตรเจนในผลิตภัณฑ์ อันตรายของเมลามีนจะทำลายอวัยวะต่างๆ ในร่างกาย จึงได้มีการพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณเมลามีนขึ้นโดยใช้อนุภาคนาโนทอง¹³ อาศัยหลักการปรับปรุงผิวหน้าของอนุภาคนาโนทองด้วยสาร 18-crown-6-thiol ซึ่งเมลามีนสามารถเกิดสารเชิงซ้อนกับ 18-crown-6-thiol ได้ (รูป 7a) การเกิดสารเชิงซ้อนดังกล่าวทำให้อนุภาคนาโนทองสามารถรวมตัวกันเป็นกลุ่มใหญ่ขึ้น ดังรูป 7b ส่งผลให้สีของอนุภาคนาโนทองเปลี่ยนไปจากเดิม เมื่อความเข้มข้นของเมลามีนเพิ่มขึ้น อนุภาคนาโนทองสามารถรวมตัวกันเป็นกลุ่มใหญ่ขึ้น สีจึงเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีม่วงและสีน้ำเงินตามลำดับตามขนาดของอนุภาคนาโนทองที่เพิ่มขึ้น (รูปที่ 7c) จึงใช้ความสัมพันธ์ดังกล่าวหาปริมาณเมลามีนในนมผง

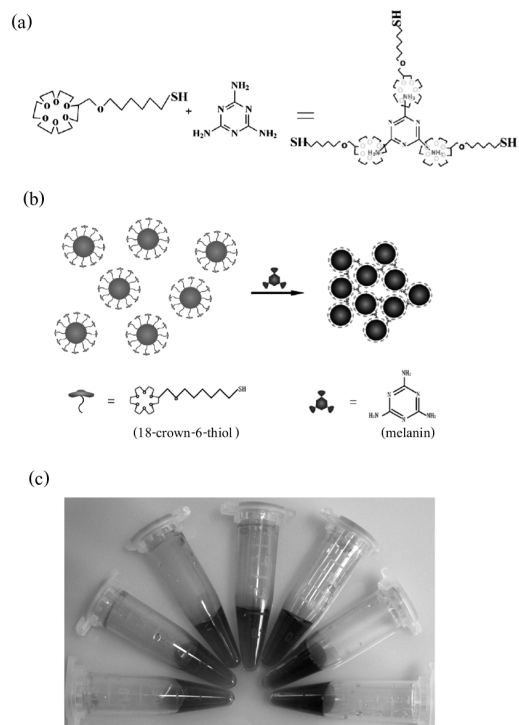


Figure 7 Schematics of the melamine sensing with 18-crown-6-thiol-modified gold nanoparticles. (a) Specific interaction in the complex between the crown ether and melamine; (b) melamine-induced aggregation of 18-crown-6-thiol-modified gold nanoparticles and (c) visual color change of the 18-crown-6-thiol-modified GNPs upon addition of melamine at different concentrations under the optimized conditions (from left to right: 0, 0.01, 0.1, 1, 2, 5, 10 ppm).

Source: Kuang *et al.*¹³

อนุภาคนาโนทองยังสามารถประยุกต์ใช้วิเคราะห์หาปริมาณสารกลุ่มเบต้าอะโกนิสต์ (β -agonists) เป็นยาที่ช่วยในการขยายหลอดลมแก้อาการหอบหืดในมนุษย์ แต่ในปัจจุบันเกษตรกรได้นำยาในกลุ่มเบต้าอะโกนิสต์ไปใช้ผิดวัตถุประสงค์ เช่น ใช้เพื่อลดไขมันและเพิ่มปริมาณเนื้อแดงในสุกร จึงจำเป็นต้องวิเคราะห์หาปริมาณยาที่ตกค้างในเนื้อสัตว์ เพื่อควบคุมไม่ให้เกินมาตรฐานอาหารที่กำหนดไว้ ช่วยป้องกันอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภค He และคณะ¹⁴ ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์หาสารกลุ่มเบต้าอะโกนิสต์โดยใช้อนุภาคนาโนทอง สารกลุ่มเบต้าอะโกนิสต์เป็นสารประกอบฟีนีลเอทาโนลามีน (Phenylethanalamines) ที่มีหมู่แทนที่ต่างๆ ในตำแหน่งวงเบนซีนและที่หมู่อะมิโน สารกลุ่มเบต้าอะโกนิสต์สามารถเปลี่ยน HAuCl_4 เป็น Au^0 (ทองเชิงอะตอม) ทำให้ได้อนุภาคนาโนทอง วัดความยาวคลื่นของอนุภาคนาโนทองที่ได้ที่ 528 นาโนเมตร ถ้าความเข้มข้นของสารกลุ่มเบต้าอะโกนิสต์มากก็จะทำให้ได้อนุภาคนาโนทองเกิดขึ้นมากด้วย (รูปที่ 8) วิธีนี้

มีความไววิเคราะห์สูง ใช้เวลาวิเคราะห์เพียง 10 นาทีต่อตัวอย่าง และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจหาากลุ่มเบต้าอะโกนิสตีในตัวอย่างจริงได้โดยไม่มีผลรบกวนจากน้ำตาลกลูโคสและยาปฏิชีวนะกลุ่มอื่นๆ

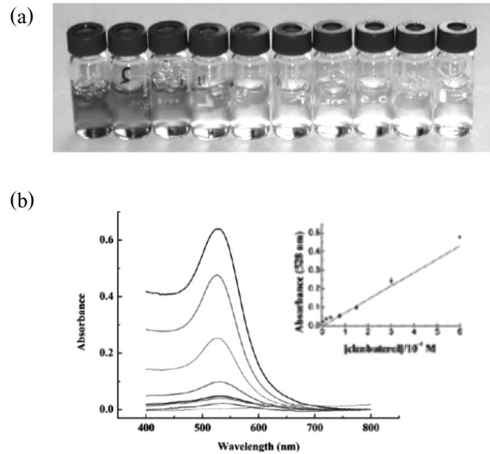


Figure 8 (a) Visual color comparison of gold nanoparticles upon addition of clenbuterol at different concentrations under optimal conditions (from left to right: 600, 300, 150, 75, 37.5, 18.8, 9.4, 4.7, 2.3, and 0 μM). (b) UV-vis spectra of the corresponding solutions. Inset: calibration curve of A_{528} vs clenbuterol concentrations.

Source: He *et al.*¹⁴

ด้านการแพทย์

อนุภาคนาโนทองยังมีสมบัติเด่นทางด้านไฟฟ้า จึงได้มีงานวิจัยที่ประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนทองสำหรับวิเคราะห์หาสารต่างๆ โดยใช้ตัวตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า เช่น การวิเคราะห์หาปริมาณแอลฟาอีโนเลส (α -Enolase; ENO1) ซึ่งเป็นแอนติเจนใช้เป็นสารบ่งชี้มะเร็งปอด อาศัยหลักการอิมมูโนเซนเซอร์แอสเสย์แบบแซนวิช¹⁵ (Sandwich immunoassay) ดังรูปที่ 9 ใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน (Screen printed carbon electrodes; SPCE) เป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน โดยเคลือบผิวหน้าขั้วไฟฟ้าด้วยพอลิเมอร์ polyethylene glycol (PEG) จากนั้นตรึงแอนติบอดีของแอลฟาอีโนเลสบนชั้นของพอลิเมอร์ดังกล่าว จากนั้นเติม casein เพื่อปิดช่องว่างบนขั้วไฟฟ้าเพื่อป้องกันการจับแบบไม่จำเพาะเจาะจง (Nonspecific binding) แล้วเติมแอลฟาอีโนเลส ซึ่งเป็นแอนติเจนจะไปจับแอนติบอดีที่ถูกตรึงไว้บนพอลิเมอร์ หลังจากนั้นเติมแอนติบอดีของแอลฟาอีโนเลส ที่ติดฉลากด้วยอนุภาคนาโนทอง แอนติบอดีนี้จะไปจับแอลฟาอีโนเลสอีกครั้งหนึ่ง ใช้เวลา 40 นาทีเพื่อให้แอนติบอดีจับกับแอนติเจนสมบูรณ์ ต่อไปออกซิไดซ์อนุภาคนาโนทอง ด้วยศักย์ไฟฟ้า 1.2

โวลต์ เป็นเวลา 120 วินาที ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก อนุภาคนาโนทองจะเปลี่ยนเป็น Au^{3+} ขึ้นต่อไปทำให้ Au^{3+} เกิดปฏิกิริยารีดักชัน ที่ศักย์ไฟฟ้า 0.35 โวลต์ ด้วยเทคนิคสแควร์เวฟโวลแทมเมทรี (Square wave voltammetry; SWV) ผลจากการเกิดปฏิกิริยาทำให้ได้กระแสไฟฟ้า ปริมาณกระแสไฟฟ้าที่ได้แปรผันตรงตามความเข้มข้นของแอลฟาอีโนเลสในตัวอย่าง พบว่าวิธีนี้ให้ขีดจำกัดต่ำถึง 2.38 pg/mL และใช้เวลาวิเคราะห์เพียง 2.5 ชั่วโมงต่อตัวอย่าง ในขณะที่วิธีทั่วไปที่ใช้ในโรงพยาบาลใช้เวลาวิเคราะห์ถึง 5 ชั่วโมงต่อตัวอย่าง

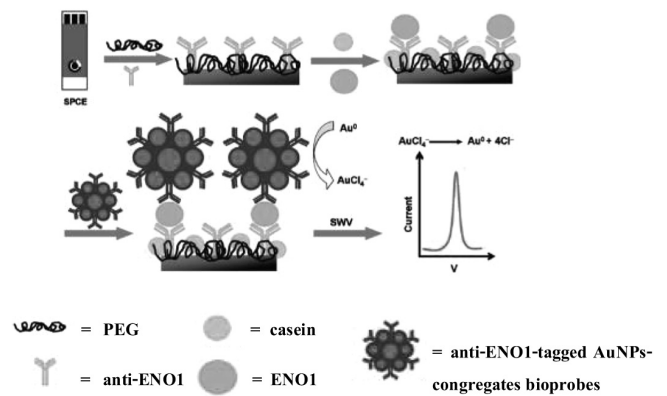


Figure 9 Schematic representation of the operation of the electrochemical immunosensor for the detection of α -Enolase

Source: Ho *et al.*¹⁵

วิธีวิเคราะห์ที่ดีในทางการแพทย์นอกจากจะต้องมีความถูกต้องสูงแล้วยังต้องคำนึงถึงการใช้งานอีกด้วย ผู้ป่วยควรที่จะสามารถตรวจวัดได้ด้วยตัวเองในเบื้องต้น เพื่อควบคุมและติดตามอาการของโรคได้ทันที่ ดังนั้นจึงได้มีการพัฒนาวิธี Immunochromatographic (IC) strip test วิเคราะห์โดยใช้แผ่นตรวจ (strip test) ตัวอย่างเช่นแผ่นตรวจยา nevirapine (NVP) ซึ่งเป็นยาต้านไวรัส HIV วิธีวิเคราะห์หา NVP ส่วนใหญ่ต้องอาศัยเครื่องมือขั้นสูง เช่น เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High performance liquid chromatograph; HPLC) แต่เนื่องจากเครื่องมือดังกล่าวมีราคาสูงและผู้วิเคราะห์ต้องมีความชำนาญ ดังนั้นจึงได้มีการพัฒนาวิธีวิเคราะห์เพื่อให้ได้วิธีวิเคราะห์ที่ง่าย รวดเร็ว ไม่ต้องใช้เครื่องมือ และสามารถวิเคราะห์ได้ด้วยตัวเอง โดยใช้อนุภาคนาโนทอง นำไปสร้างเป็นแผ่นตรวจ อาศัยหลักการของอิมมูโนเซนเซอร์แบบแซนวิช¹⁶ แผ่นตรวจทำมาจากเมมเบรนไนโตรเซลลูโลส (Nitrocellulose membrane) ประกอบด้วย 3 ส่วน ดังรูปที่ 10 คือ ส่วนที่ 1 เป็นแถบที่อยู่ด้านล่างสุด ได้ทำการตรึงแอนติบอดีของ NVP ที่ติดฉลากด้วยอนุภาคนาโนทอง ส่วนที่ 2

เป็นแถบทดสอบตัวอย่าง (Test line; T) อยู่ตรงกลางของแผ่นตรวจ บริเวณนี้ตรึง NVP ไว้ และส่วนที่ 3 เป็นแถบควบคุม (Control line; C) เป็นแถบที่อยู่บนสุดของแผ่นตรวจ โดยตรึงแอนติบอดีไว้บนแถบควบคุม เมื่อนำแผ่นตรวจนี้ไปจุ่มในตัวอย่างซีรัมของผู้ป่วย ตัวอย่างและอนุภาคนาโนทองติดฉลากด้วยแอนติบอดีที่ถูกตรึงไว้บนแถบที่ 1 จะเคลื่อนที่ไปยังด้านบนของแผ่นตรวจ ถ้าในตัวอย่างมี NVP ยา NVP จะไปจับกับแอนติบอดีที่อยู่บนอนุภาคนาโนทอง ทำให้ไม่สามารถจับกับยา NVP ที่บริเวณส่วนที่ 2 ได้อีก จึงทำให้ไม่ปรากฏเป็นแถบสีแดง ในทางตรงกันข้ามถ้าในตัวอย่างไม่มี NVP แอนติบอดีที่อยู่บนอนุภาคนาโนทองสามารถจับยา NVP ที่ถูกตรึงอยู่บนแถบที่ 2 ได้ ทำบริเวณนี้เกิดแถบสีแดงขึ้น แสดงว่าถ้าในตัวอย่างมี NVP จะไม่ปรากฏเป็นแถบสีแดง แต่ถ้าไม่มี NVP จะปรากฏเป็นแถบสีแดง ในขณะที่แถบควบคุมจะปรากฏเป็นแถบสีแดงเสมอไม่ว่าในตัวอย่างจะมีหรือไม่มี NVP เพราะแอนติบอดีที่เกาะบนอนุภาคนาโนทองสามารถจับแอนติบอดีที่ถูกตรึงอยู่บนแถบที่ 3 ได้เสมอ จึงทำให้ปรากฏเป็นแถบสีแดง เพื่อใช้เป็นการยืนยันถึงประสิทธิภาพการใช้งาน เพราะหากขีดแดงบริเวณแถบที่ 3 ไม่ปรากฏ แสดงว่าแผ่นตรวจใช้งานไม่ได้ ผลการวิเคราะห์พบว่าแผ่นตรวจมีข้อดีคือไม่มีผลรบกวนจากยาต้านไวรัสกลุ่มอื่นๆ ให้ผลวิเคราะห์สอดคล้องกับวิธีมาตรฐานเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง สามารถตรวจวัดได้ด้วยตัวเอง สามารถอ่านผลการทดสอบได้ด้วยตาเปล่า และใช้เวลาวิเคราะห์เพียง 10 นาที

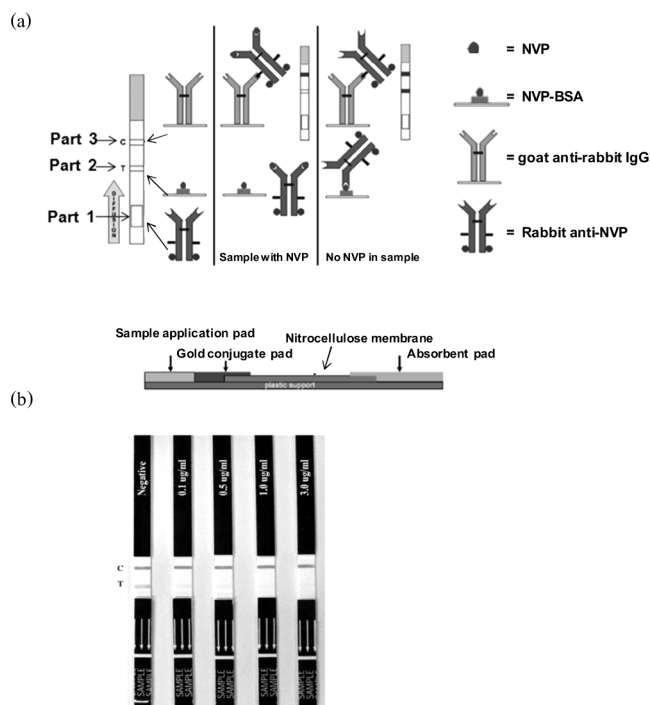


Figure 10 (a) Configuration of the IC NVP strip test and (b) IC strip test results at NVP concentrations of 0, 0.1, 0.5, 1.0 and 3.0 g/ml in PBS pH 7.4. C= control line; T= test line.

Source: Pattarawarapan et al.¹⁶

นอกจากตัวอย่างการประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนทองสำหรับการวิเคราะห์ทางเคมีดังที่กล่าวมาแล้ว ยังสามารถใช้อนุภาคนาโนทองในการวิเคราะห์หาสารอื่นๆ ได้อีกมากมาย ดัง Table 1

Table 1 The applications of gold nanoparticles for chemical analysis

Application field	Analyze	Method	Sample	Reference
Environment	mercury	gold nanoparticles-modified screen-printed carbon electrodes for anodic stripping voltammetric method	rain water, river water, waste water	[17]
	lead	colloidal gold probe-based immuno-chromatographic assay	water sample	[18]
	trinitrotoluene	aggregation of cysteine modified gold nanoparticle	soil, ground-water	[19]
Food	fumonisin B1, B2, B3	gold nanoparticle probe-based immunochromatographic strip	maize	[20]
	staphylococcal - enterotoxins	gold nanoparticle-based enhanced chemiluminescence immunosensor	mushroom, tomato	[21]
	melamine	aggregation of unmodified gold nanoparticle colorimetric assay	raw milk	[22]
Medicine	α -fetoprotein	amperometric immunosensor using carbon nanotube/gold nanoparticle doped chitosan film	sera	[23]
	prostate-specific antigen	immunosensing based on colloidal gold enhanced sandwich assays	serum	[24]
	DNA	colorimetric detection using gold nanoparticle aggregation	cell lines, tissue samples	[25]

บทสรุป

จะเห็นได้ว่าหลายปีที่ผ่านมา ได้มีงานวิจัยมากมายที่นำความก้าวหน้าทางด้านนาโนเทคโนโลยีมาประยุกต์ใช้กับงานด้านเคมีวิเคราะห์ อนุภาคนาโนทองเป็นวัสดุนาโนที่มีสมบัติเด่นหลากหลายทั้งทางด้านกายภาพและทางเคมี ทำให้นาโนอนุภาคนาโนทองมาใช้ในการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ทำให้สามารถเพิ่มประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารในตัวอย่างต่างๆ และในอนาคตมีแนวโน้มที่จะนำอนุภาคนาโนทองไปพัฒนาต่อยอดเพื่อสร้างเป็นเซนเซอร์สำหรับตรวจวัดสารต่างๆ ที่สำคัญ ออกสู่ตลาดในเชิงพาณิชย์ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Wang JJ, Liu BH, Hsu YT, Yu FY, Sensitive competitive direct enzyme-linked immunosorbent assay and gold nanoparticle immunochromatographic strip for detecting aflatoxin M1 in milk. Food Control 2011;22:964-969.
2. Suwansa-ard S, Kanatharana P, Asawatreratanakul P, Limsakul C, Wongkittisuksa B, Thavarungkul P, Semi-disposable reactor biosensors for detecting carbamate pesticides in water. Biosens Bioelectron 2005; 21:445-454.

3. Wang J, Cao Y, Xu Y, Li G, Colorimetric multiplexed immunoassay for sequential detection of tumor markers. *Biosens Bioelectron* 2005;25:532-536.
4. ศูนย์นาโนเทคโนโลยี. นาโนเทคโนโลยี งานวิจัยนาโนเทคโนโลยีของประเทศไทย. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ; 2551
5. Wang Z, Ma L, Gold nanoparticle probes. *Coord Chem Rev* 2009;253:1607-1618.
6. Nguyen DT, Kim DJ, Kim KS. Controlled synthesis and biomolecular probe application of gold nanoparticles. *Micron* 2011;42:207-227.
7. Loyprasert S, Hedstrom M, Thavarungkul P, Kanatharana P, Mattiasson B, Sub-attomolar detection of cholera toxin using a label-free capacitive immunosensor. *Biosens Bioelectron* 2010;25:1977-1983.
8. http://en.wikipedia.org/wiki/Colloidal_gold
9. Wang M, Wang L, Wang G, Ji X, Bai Y, Li T, Gong S, Li J, Application of impedance spectroscopy for monitoring colloid Au-enhanced antibody immobilization and antibody-antigen reactions. *Biosens Bioelectron* 2004;19:575-582.
10. Ji X, Song X, Li J, Bai Y, Yang W, Peng X, Size control of gold nanocrystals in citrate reduction: The third role of citrate. *J Am Chem Soc* 2007;129:13939-13948.
11. Link S, El-Sayed MA, Spectral Properties and Relaxation Dynamics of Surface Plasmon Electronic Oscillations in Gold and Silver Nanodots and Nanorods. *J Phys Chem B* 1999; 103:8410-8426.
12. Huang CC, Chang HT, Selective Gold- Nanoparticle-Based "Turn-On" Fluorescent Sensors for Detection of Mercury(II) in Aqueous Solution. *Anal Chem* 2006;78:8332-8338.
13. Kuang H, Chen W, Yan W, Xu L, Zhu Y, Liu L, Chu H, Peng C, Wang L, Kotov NA, Xu C, Crown ether assembly of gold nanoparticles: Melamine sensor. *Biosens Bioelectron* 2011;26:2032-2037.
14. He P, Shen L, Liu R, Luo Z, and Li Z. Direct Detection of β -Agonists by Use of Gold Nanoparticle-Based Colorimetric Assays. *Anal Chem* 2011;83:6988-6995.
15. Ho JA, Chang HC, Shih NY, Wu LC, Chang YF, Chen CC, Chou C, Diagnostic Detection of Human Lung Cancer-Associated Antigen Using a Gold Nanoparticle-Based Electrochemical Immunosensor. *Anal Chem* 2010;82:5944-5950.
16. Pattarawarapan M, Nangola S, Cressey TR, Tayapiwatana C, Development of a one-step immunochromatographic strip test for the rapid detection of nevirapine (NVP), a commonly used antiretroviral drug for the treatment of HIV/AIDS. *Talanta* 2007;71:462-470.
17. Bernalte E, C. Sanchez M, E. Gil P, Gold nanoparticles-modified screen-printed carbon electrodes for anodic stripping voltammetric determination of mercury in ambient water samples. *Sensor Actuat B* 2012;161 :669- 674.
18. Tang Y., Zhai YF, Xiang JJ, Wang H, Liu B, Guo CW, Colloidal gold probe-based immunochromatographic assay for the rapid detection of lead ions in water samples. *Environ Pollut* 2010;158:2074-2077.
19. Dasary SSR, Singh AK, Senapati D, Yu H, Ray PC, Gold Nanoparticle Based Label-Free SERS Probe for Ultrasensitive and Selective Detection of Trinitrotoluene. *J Am Chem Soc* 2009;131:13806-13812.
20. Li YS, Zhou Y, Lu SY, Guo DJ, Ren HL, Meng XM, Zhi BH, Lin C, Wang Z, Li XB, Liu ZS, Development of a one-step test strip for rapid screening of fumonisins B1, B2 and B3 in maize. *Food Control* 2012;24:72-77.
21. Yang M, Kostov Y, Bruck HA, Rasooly A, Gold nanoparticle-based enhanced chemiluminescence immunosensor for detection of Staphylococcal Enterotoxin B (SEB) in food. *Int J Food Microbiol* 2009;133:265-271.
22. Li L, Li B, Cheng D, Mao L, Visual detection of melamine in raw milk using gold nanoparticles as colorimetric probe. *Food Chem* 2010;122:895-900.
23. Lin J, He C, Zhang L, Zhang S, Sensitive amperometric immunosensor for α - fetoprotein based on carbon nanotube/gold nanoparticle doped chitosan film. *Anal Biochem* 2009;384:130-135.

24. Huang L, Reekmans G, Saerens D, Friedt JM, Frederix F, Francis L, Serge Muyldermans, Campitelli A, Hoof CV, Prostate-specific antigen immunosensing based on mixed self-assembled monolayers, camel antibodies and colloidal gold enhanced sandwich assays. *Biosens Bioelectron* 2005;21:483-490.
25. Lee H, Kang T, Yoon KA, Lee SY, Joo SW, Lee K, Colorimetric detection of mutations in epidermal growth factor receptor using gold nanoparticle aggregation. *Biosens Bioelectron* 2010;25:1669-1674.