

การสังเคราะห์อนุภาคทองคำนาโนที่ห่อหุ้มด้วยโมเลกุลของ L-Tyrosine
เพื่อตรวจจับสัญญาณชีวภาพของโรคมะเร็งต่อมลูกหมากขั้นเบื้องต้น

Synthesis of Gold Nanoparticles Encapsulated by L-Tyrosine Molecules to Detect
Biomarker of Prostate Cancer in the Early stage

กัณฑ์พงษ์ ศรีนเรศพงษ์ วรกร คำแปง
ปิยะวรรณ ปัญญาโส¹ ศรีณพงศ์ ยิ้มกลิ่น²

¹โรงเรียนวิทยาศาสตร์จุฬารามราชวิทยาลัย เชียงราย ตำบลรอบเวียง อำเภอเมืองเชียงราย จังหวัดเชียงราย 57000

²ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 239 ถนนห้วยแก้ว ตำบลสุเทพ อำเภอเมืองเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200

Email: 05128_warakorn@pcccr.ac.th

บทคัดย่อ

มะเร็งต่อมลูกหมากเป็นหนึ่งในมะเร็งที่พบบ่อยในผู้ชาย โดยโครงการนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสังเคราะห์อนุภาคทองคำนาโนที่ห่อหุ้มด้วย L-Tyrosine (Tyr-AuNPs) สำหรับตรวจจับ Spermidine ซึ่งเป็น Biomarker ของโรคมะเร็งต่อมลูกหมาก และเปรียบเทียบศักยภาพกับแนวทางการตรวจวินิจฉัยทั่วไป ผลการทดลองพบว่าสภาวะที่เหมาะสมคือ pH 9.36 ใช้ L-Tyrosine 3.0 μmol ต่อ HAuCl_4 10 μmol ที่อุณหภูมิ 80 °C ได้สารละลายสีแดงที่มีค่า λ_{max} 520 nm และอนุภาคทรงกลมขนาดเล็ก 8.99 ± 0.17 nm ผลการวิเคราะห์ด้วย FTIR ยืนยันการห่อหุ้มของ L-Tyrosine บนพื้นผิวอนุภาคทองคำ เมื่อทดสอบกับ Spermidine พบการเปลี่ยนสีที่สังเกตได้ด้วยตาเปล่า มีความจำเพาะสูงเมื่อเทียบกับสารประกอบอื่นในปัสสาวะภายใต้การงดน้ำและอาหาร 10-12 ชั่วโมง และความเข้มของสีสัมพันธ์กับความเข้มข้นของ Spermidine ดังนั้น Tyr-AuNPs จึงสามารถตรวจจับ Biomarker ได้อย่างรวดเร็วและจำเพาะ ลดความซับซ้อนของขั้นตอนเมื่อเทียบกับการตรวจวินิจฉัยทั่วไป และมีศักยภาพในการพัฒนาเป็นชุดตรวจคัดกรองจริงต่อไปในอนาคต

คำสำคัญ: อนุภาคทองคำนาโน, L-Tyrosine, Spermidine, โรคมะเร็งต่อมลูกหมาก

1. บทนำ

มะเร็งต่อมลูกหมากเป็นหนึ่งในโรคมะเร็งในประชากรชายที่พบบ่อยในอันดับต้น ๆ ของโลก สาเหตุการเกิดมะเร็งต่อมลูกหมากคาดว่าเกิดจากการเปลี่ยนแปลง DNA ของเซลล์ต่อมลูกหมากแบบผิดปกติ ซึ่งโรคมะเร็งต่อมลูกหมากสามารถรักษาได้หากตรวจพบในระยะเริ่มต้น ในปัจจุบันมีการวินิจฉัยโรคมะเร็งต่อมลูกหมากมีอยู่หลากหลายวิธี เช่น อัลตราซาวด์ต่อมลูกหมากผ่านทางทวารหนัก (transrectal ultrasound) แพทย์จะใช้เครื่องมือตรวจเข้าทางทวารหนักที่ต่อมลูกหมาก และการเจาะเลือดเพื่อตรวจสอบสารบ่งชี้มะเร็งต่อมลูกหมาก (PSA)

นิยมใช้วิธีเจาะเลือดเพื่อหาค่า PSA ซึ่งระดับค่า PSA ที่สูงอาจบ่งบอกได้ถึงความผิดปกติของต่อมลูกหมาก ดังนั้นการตรวจระดับค่า PSA อย่างเดียวจึงไม่สามารถสรุปว่าเป็นมะเร็งต่อมลูกหมากได้ สำหรับหลักการ SPR (surface plasmon resonance) ของอนุภาคทองคำนาโนสามารถตรวจจับ Spermidine ที่เป็นสัญญาณทางชีวภาพของโรคมะเร็งต่อมลูกหมากได้ เนื่องจากเกิดจากอันตรกิริยาระหว่างหมู่ฟังก์ชัน amine ของ Spermidine กับหมู่ Phenol ของ L-Tyrosine ได้และทำให้อนุภาคนาโนเกิดการรวมตัวเป็นอนุภาคที่มีขนาดใหญ่ขึ้น ทำให้เกิดการเปลี่ยนสีสามารถสังเกตได้ง่าย

ในปัจจุบันได้มีการศึกษางานวิจัยที่ได้มีการสังเคราะห์อนุภาคทองคำนาโนเพื่อตรวจจับสารกลุ่ม polyamine โดยอาศัยหลักการ SPR ของอนุภาคนาโน และมีรายงานการศึกษาการใช้ L-Tyrosine นำมาห่อหุ้มกับอนุภาคนาโน อย่างไรก็ตามอนุภาคนาโนที่สังเคราะห์ในงานวิจัยมีการใช้กระบวนการที่ซับซ้อน ต้นทุนสูง และยังไม่ได้มีการศึกษาเพื่อนำไปใช้ได้จริงในปัจจุบัน

ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคทองคำนาโนจากแผ่นทองคำเปลวที่มีการห่อหุ้มด้วย L-Tyrosine เพื่อใช้ตรวจจับ Spermidine ที่เป็นสารสัญญาณชีวภาพของโรคมะเร็งต่อมลูกหมาก โดยอาศัยหลักการ SPR ของอนุภาคนาโนที่เมื่ออนุภาคมีการจับกันจนมีขนาดใหญ่ขึ้นจะเกิดการเปลี่ยนสีของสารละลายผ่านอันตรกิริยาระหว่าง spermidine และ L-Tyrosine เพื่อให้มีความจำเพาะและรวดเร็วในการตรวจวินิจฉัย

2. วิธีการดำเนินงาน

2.1. การเตรียม sol. HAuCl₄ จากทองคำเปลว
ซึ่งทองคำเปลวหนัก 0.0098 g เตรียม Aqua Regia โดยนำ HCl 36.5 %v/v 3 mL ผสมกับ HNO₃ 65 %v/v 1 mL ในตู้ดูดควัน หยด Aqua regia 25 μ L ผสมกับทองคำเปลว รอ 5 นาที เติมน้ำ DI จนปริมาตร 10 mL จึงจะได้ HAuCl₄ 5.0 mM และพิสูจน์เอกลักษณ์ sol. HAuCl₄ ด้วยเทคนิค UV-Vis spectrum ร่วมกับ Energy Dispersive Spectroscopy

2.2. ศึกษาค่า pH หรือค่ากรด-เบสที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์ Tyr-AuNPs

2.2.1. ศึกษาค่า pH ในช่วงที่มากกว่า น้อยกว่า และเท่ากับค่า pI ของ L-Tyrosine เตรียม L-Tyrosine 1.0 mM 10.00 mL จากนั้นเตรียมสารละลาย HAuCl₄ 1.0 mM 10.00 mL จากสารละลายตั้งต้น เทสารละลาย L-Tyrosine ลงในขวดรูปชมพู่กวนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็ก และค่อย ๆ เติมสารละลาย HAuCl₄ พร้อมปรับค่า pH ด้วย NaOH 1 M ให้ได้ ค่า pH 4.26, 5.54 และ 7.04 ก่อนให้ความร้อนที่ 80 °C เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 400-700 nm

2.2.2. ศึกษาค่า pH ในช่วงที่ค่าเหมาะสมเพิ่มเติมจากข้อที่ 2.2.1 เตรียม L-Tyrosine และ HAuCl₄ 1.0 mM 10.00 mL จากนั้นเติม sol. HAuCl₄ ลงใน sol. L-Tyrosine ภายใต้การกวนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็ก ปรับค่า pH ด้วย NaOH 1 M ให้ได้ 4 ระดับตามการทดลองข้อ 2.2.1 แล้วให้ความร้อนที่ 80 °C เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 400-700 nm

2.3. ศึกษาความเข้มข้นของ L-Tyrosine ที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์ Tyr-AuNPs

เตรียม sol. L-Tyrosine ความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 mM 10.00 mL และเตรียมสารละลาย HAuCl₄ 1.0 mM 10.00 mL จากนั้นเติม sol. HAuCl₄ ลงใน sol. L-Tyrosine ภายใต้การกวนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็ก ปรับค่า pH ด้วย NaOH 1 M ตามสภาวะที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 2.2.2. แล้วให้ความร้อนที่ 80 °C เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 400-700 nm รวมถึงยืนยันการห่อหุ้มบนผิวอนุภาคด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectroscopy และศึกษารูปปร่างและขนาดด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน

2.4. วิเคราะห์ความจำเพาะของ Tyr-AuNPs เมื่อตรวจจับกับสารองค์ประกอบในปัสสาวะ

เตรียมสารละลายองค์ประกอบในปัสสาวะ 13 ชนิด ปริมาตร 10.00 mL ได้แก่ Urea (210.0 mM), NaCl (80.0 mM), KCl (40.0 mM), CaCl₂ (2.5 mM), NH₄Cl (17.0 mM), Spermidine (5.0 mM), MgCl₂ (2.5 mM), Na₂SO₄ (14.1 mM), NaH₂PO₄ (6.7 mM), Na₂HPO₄ (2.1 mM), Creatinine (8.8 mM), Glucose (0.6 mM) และ Glycine (1.4 mM) โดยใช้ DI เป็นตัวทำละลาย ปิเปตต์ Tyr-AuNPs 1.0 mL ลงในหลอดทดลองจำนวน 14 หลอด (รวมหลอดควบคุม) จากนั้นเติมสารแต่ละชนิด 1.0 mL ลงในแต่ละหลอด และตั้งทิ้งไว้ 3 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 400-700 nm

2.5. วิเคราะห์ผลจากความเข้มข้นของ Spermidine เมื่อตรวจจับกับ Tyr-AuNPs

เตรียมสารละลาย Spermidine ความเข้มข้น 5.0, 10.0, 20.0, 50.0 และ 100.0 μ M ปริมาตร 10.00 mL ปิเปตต์ Tyr-AuNPs 1.0 mL ลงในหลอดทดลองจำนวน 6 หลอด

(รวมหลอดควบคุม) จากนั้นเติมสารละลาย Spermidine แต่ละความเข้มข้น 1.0 mL ลงในแต่ละหลอด และตั้งทิ้งไว้ 3 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 400-700 nm

2.6. วิเคราะห์การตรวจจับ Tyr-AuNPs กับ ปัสสาวะจำลองเมื่อมีความเข้มข้นที่แตกต่างกัน

เตรียมปัสสาวะจำลองที่ไม่มี Spermidine ตามการทดลองที่ 2.3. โดยผสมสารองค์ประกอบตามลำดับ ได้แก่ Urea, NaCl, KCl, NaH_2PO_4 , Na_2SO_4 , Na_2HPO_4 , CaCl_2 , NH_4Cl , MgCl_2 , Creatinine Glucose และ Glycine แล้วปรับปริมาตรเป็น 10.00 mL เจือจางปัสสาวะจำลองให้มีอัตราส่วน 1.25, 1.50, 1.75 และ 2.00 เท่า ปิเปตต์ Tyr-AuNPs 1.0 mL ลงในหลอดทดลอง 5 หลอด (รวมหลอดควบคุม) จากนั้นเติมปัสสาวะจำลอง 1.0 mL

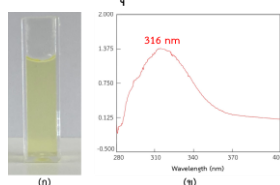
2.7. วิเคราะห์ Tyr-AuNPs ปัสสาวะจำลอง เจือจางปกติและที่มี spermidine เมื่อเป็นโรคร่วมด้วย

นำสารละลายที่เจือจาง 2.00 เท่าจากข้อ 2.5. แบ่งเป็น 2 ส่วน ปริมาตร 6 และ 3 mL เติมสารละลาย Spermidine 200 mM ปริมาตร 3 mL ลงในสารละลายส่วนที่สอง ปิเปตต์สารละลายอนุภาคทองคำนาโน 1 mL ลงในหลอดทดลอง 2 หลอด แล้วตั้งทิ้งไว้ประมาณ 3 นาที

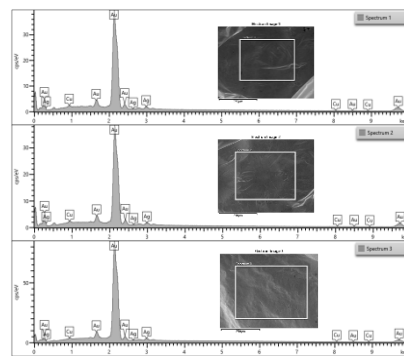
3. ผลและอภิปรายผล

3.1. การเตรียมสารละลาย HAuCl_4 จากแผ่นทองคำเปลวโดยใช้ Aqua Regia

จากการเตรียม sol. HAuCl_4 จากแผ่นทองคำเปลวโดยใช้ Aqua Regia จึงไม่ทราบว่ามีค่าการดูดกลืนแสงที่เหมาะสมหรือไม่เลยใช้เทคนิค UV-vis spectroscopy ในการตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสารละลายนี้



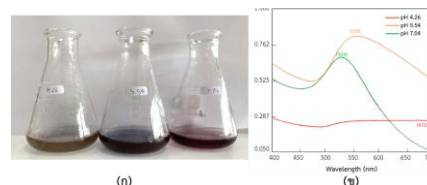
รูปที่ 1 (ก) HAuCl_4 ที่ความเข้มข้น 0.25 mM (ข) ค่าดูดกลืนแสงของ HAuCl_4 ที่ความเข้มข้น 0.25 mM จากผลการทดลองทำให้ทราบว่าค่าการดูดกลืนแสงมีค่าที่เหมาะสมและสอดคล้องกับงานวิจัยในปี ค.ศ.2015 ของ King, S. R.; Massicot, J.; McDonagh, A. M. A ต่อมาได้ใช้เทคนิค EDS ในการตรวจสอบความบริสุทธิ์ของทองคำในแผ่นทองคำเปลว



รูปที่ 2 ร้อยละของธาตุองค์ประกอบในแผ่นทองคำเปลว โดยธาตุองค์ประกอบหลักคือ Au (94.9% S.D. 0.51) รองมาคือ Ag (3.82% S.D. 0.30) และ Cu (1.26% S.D. 0.24) คาดว่านำไปสังเคราะห์อนุภาคนาโนต่อไปได้

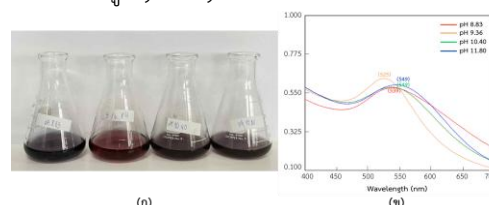
3.2. ศึกษาค่าความเป็นกรด-เบสหรือค่า pH ที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์ Tyr-AuNPs

3.2.1 การศึกษาการสังเคราะห์ Tyr-AuNPs ในช่วงที่น้อยกว่า เท่ากับ และมากกว่าค่า pI ของ L-Tyrosine ซึ่งคือค่า pH = 4.26 5.54 และ 7.04 และใช้เทคนิค UV-VIS spectroscopy วัดค่าการดูดกลืนแสงช่วง 400-700 nm



รูปที่ 3 (ก) สารละลายจากการทดลองที่ 2.2 (ข) ค่าดูดกลืนแสงของ Tyr-AuNPs ช่วง pH ต่างกันช่วงแรก เมื่อค่า pH สูงกว่าค่า pI ทำให้ L-tyrosine อยู่ในรูปประจุลบ จึงสามารถรีดิวซ์ได้ดี เกิดการห่อหุ้มบนผิวอนุภาคนาโนได้ ส่วนที่ค่าอื่นมีค่าประจุและคุณสมบัติที่ไม่เหมาะสมในการสังเคราะห์ Tyr-AuNPs

3.2.2. จากการศึกษาที่ 3.2.1. จึงได้มีการศึกษาการสังเคราะห์ Tyr-AuNPs ในช่วง pH = 8.83 9.36 10.40 และ 11.80 ซึ่งสองช่วงแรกเป็นช่วงที่ L-Tyrosine มีประจุเป็น -1 และสองช่วงหลังมีประจุเป็น -2 จากการแตกตัวของหมู่ hydroxy ของฟีนอล

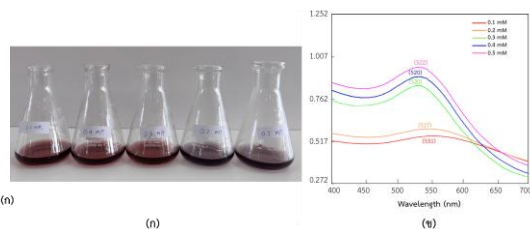


รูปที่ 4 (ก) สารละลายจากการทดลองที่ 2.2 เพิ่มเติม (ข) ค่าดูดกลืนแสงของ Tyr-AuNPs ช่วง pH ต่างกันช่วงหลัง

จากผลการทดลองโครงสร้างของ *L*-Tyrosine ที่มีค่า pH มากกว่า 10.00 จะให้ผลลัพธ์ที่เป็นสีม่วงจากการที่โครงสร้างของ *L*-Tyrosine เกิดการเรโซแนนซ์ได้จึงเกิดการรบกวนได้ยากกว่าโครงสร้างที่มีประจุ -1 ดังนั้นที่ค่า pH = 9.36 จึงเหมาะสมแก่การสังเคราะห์ที่สุด

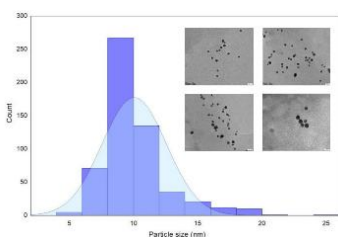
3.3. ศึกษาความเข้มข้นของ *L*-Tyrosine ที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์ Tyr-AuNPs

จากการศึกษาในเรื่องปริมาณสารที่สามารถ capping ได้มากที่สุดเมื่อมีปริมาณของอนุภาคนาโนค่าๆ หนึ่ง จึงได้สังเคราะห์ Tyr-AuNPs ในช่วงปริมาณของ *L*-Tyrosine ที่ 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, และ 0.5 mM 10 mL ซึ่งช่วงที่ใช้ในการศึกษามีการศึกษาจากงานวิจัยของ Ju, J.-J., Lu, C.-X., & Jan, J.-S. (2012) จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 400-700 nm



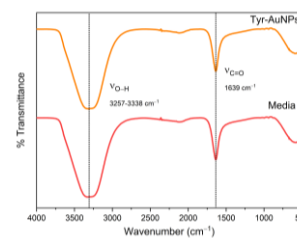
รูปที่ 5 (ก) สารละลายจากการทดลองที่ 2.3 (ข) ค่าดูดกลืนแสงของ Tyr-AuNPs ช่วงความเข้มข้นต่างกัน สรุปได้ว่า เมื่อใช้ *L*-Tyrosine 2.0 μ mol หรือต่ำกว่า จะได้สารละลายสีดำ เนื่องจากมีปริมาณไม่เพียงพอต่อการห่อหุ้มอนุภาคทองคำนาโน ส่วนเมื่อใช้ *L*-Tyrosine ตั้งแต่ 3.0 μ mol ขึ้นไป จะมีปริมาณเพียงพอสำหรับการห่อหุ้มผิวอนุภาค ส่งผลให้ได้สารละลายสีแดงและมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด ประมาณ 520 nm

3.4. พิสูจน์เอกลักษณ์ของ Tyr-AuNPs ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM)



รูปที่ 6 Tyr-AuNPs เมื่อส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์ TEM สรุปว่า Tyr-AuNPs มีขนาดอยู่ในช่วง 8.99 ± 0.17 nm มีค่า S.D. ที่ 2.51 และมีรูปร่างทรงกลม ซึ่งเมื่อมีอนุภาคเป็นทรงกลมจะมีพื้นที่ผิวรวมต่อปริมาตรมากกว่ารูปร่างอื่น ๆ จึงเหมาะสมกับการ capping ด้วยสารชนิดอื่นต่อไป

3.5. พิสูจน์เอกลักษณ์ Tyr-AuNPs ด้วยเครื่องสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดแบบแปลงฟูเรียร์ (FTIR)

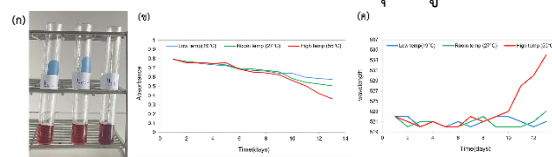


รูปที่ 7 FTIR spectrum ของ Tyr-AuNPs และ Media

จากการทดลองพบว่า Tyr-AuNPs มีค่า %Transmittance สูงกว่า *L*-Tyrosine เนื่องจากมีค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของ *L*-Tyrosine อิสระลดลง คาดว่าเกิดจากการที่ไปเกาะบนอนุภาคทองคำนาโน

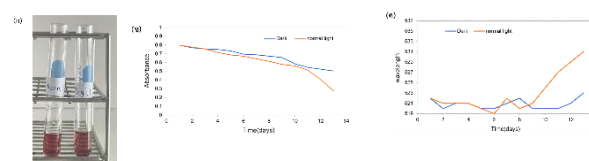
3.6. สภาวะที่อาจส่งผลต่อความเสถียรของอนุภาคทองคำนาโนที่ห่อหุ้มด้วย *L*-Tyrosine

3.6.1. ศึกษาสภาวะที่มีอุณหภูมิแตกต่างกัน โดยศึกษาในช่วงที่เท่ากับ น้อยกว่า และมากกว่าอุณหภูมิของห้อง



รูปที่ 8 (ก) สีสารละลาย Tyr-AuNPs เมื่ออยู่ในสภาวะเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างกัน (ข) กราฟระหว่างค่า λ_{max} และวัน (ค) กราฟระหว่างค่า λ_{max} ต่อวัน

3.6.2 ศึกษาสภาวะที่มีความเข้มแสงแตกต่างกัน โดยศึกษาในช่วงที่ได้รับแสงเป็นปกติ และในที่ๆไม่มีแสงส่อง



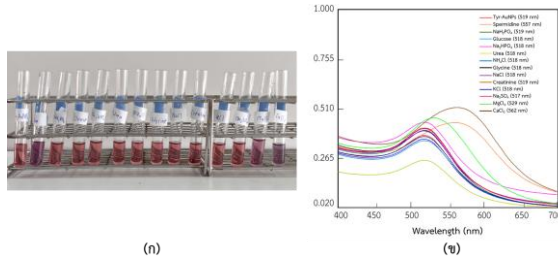
รูปที่ 9 (ก) สีสารละลาย Tyr-AuNPs เมื่ออยู่ในสภาวะเก็บรักษาที่ความเข้มแสงต่างกัน (ข) กราฟระหว่างค่า λ_{max} และวัน (ค) กราฟระหว่างค่า λ_{max} ต่อวัน

จากกราฟพบว่า เมื่อเวลาผ่านไปค่า λ_{max} เกิดการ Redshift และค่าดูดกลืนแสงลดลง โดยเฉพาะที่อุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิห้องและเมื่อได้รับแสง เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงขึ้นทำให้อนุภาคทองคำนาโนค่อยๆเกิดการรวมกลุ่มกัน ทำให้ค่าดูดกลืนแสงลดลงตามกฎของเบียร์-แลมเบิร์ต

3.7. วิเคราะห์ความจำเพาะของ Tyr-AuNPs

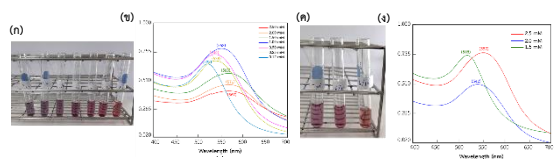
เมื่อตรวจจับกับสารองค์ประกอบในปัสสาวะ

ใช้เทคนิค UV-Vis เพื่อหาค่าความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดช่วง 400–700 nm โดยได้ศึกษาเทียบกับงานวิจัยในปี ค.ศ.2024 ของ Noble, K. A., และคณะ



รูปที่ 10 (ก) Tyr-AuNPs จับกับสารองค์ประกอบในปัสสาวะที่ต่างกัน (ข) ค่าการดูดกลืนแสงของ Tyr-AuNPs เมื่อจับกับสารองค์ประกอบในปัสสาวะที่ต่างกัน

จากการทดลองพบว่า Tyr-AuNPs เกิดการเปลี่ยนเป็นสีม่วงและเกิดการ Red shift เมื่อมีการจับกับ Spermidine, CaCl_2 และ MgCl_2 ทั้งที่ควรจะมีการเปลี่ยนแปลงเฉพาะ Spermidine จึงได้ศึกษาความเข้มข้นของสารแต่ละชนิดภายใต้สภาวะงดอาหารและน้ำ (Fasting)

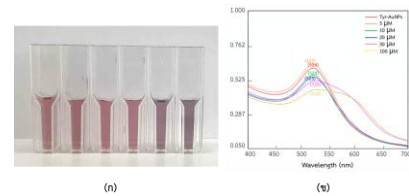


รูปที่ 11 (ก) Tyr-AuNPs เมื่อเติม CaCl_2 ต่างกัน (ข) ค่าดูดกลืนแสง Tyr-AuNPs ในความเข้มข้น CaCl_2 ต่างกัน (ค) Tyr-AuNPs เมื่อเติม MgCl_2 ต่างกัน (ง) ค่าดูดกลืนแสง Tyr-AuNPs ในความเข้มข้น MgCl_2 ต่างกัน

จากการศึกษา Spermidine มีโครงสร้างและประจุที่เหมาะสมต่อการเหนี่ยวนำให้อนุภาคนาโนเกาะกลุ่ม แต่ Ca^{2+} และ Mg^{2+} ทำให้เกิดการเกาะกลุ่มเนื่องจากมีประจุ +2 แต่เมื่อเจือจางสารละลาย 10 เท่าจะไม่พบการเปลี่ยนสี เทียบกับการ Fasting 10-12 ชั่วโมง

3.8. วิเคราะห์ผลจากความเข้มข้นของ Spermidine เมื่อถูกตรวจจับด้วย Tyr-AuNPs

จากการศึกษาพบว่า Spermidine ที่มีความเข้มข้นมากกว่า 20 μM มีความเสี่ยงต่อโรคมะเร็งต่อมลูกหมาก จึงศึกษา Tyr-AuNPs ต่อ Spermidine ที่ความเข้มข้น 5–100 μM โดยวิเคราะห์ค่า λ_{max} ด้วยเทคนิค UV-Vis

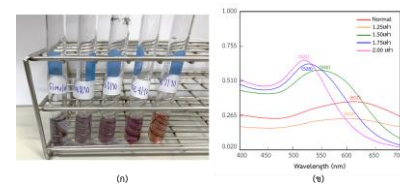


รูปที่ 12 (ก) สีของ Tyr-AuNPs จับกับ Spermidine ที่มีความเข้มข้นต่างกัน (ข) ค่าดูดกลืนแสงของ Tyr-AuNPs เมื่อจับกับ Spermidine ที่มีความเข้มข้นต่างกัน

จากการทดลองพบว่า เมื่อความเข้มข้นของ Spermidine เพิ่มขึ้น Tyr-AuNPs จะเกิดการเกาะกลุ่มมากขึ้น ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนสีของสารละลาย

3.9. วิเคราะห์การตรวจจับ Tyr-AuNPs กับปัสสาวะจำลองเมื่อมีความเข้มข้นที่แตกต่างกัน

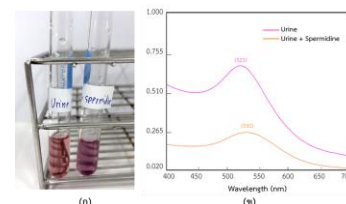
ไอออนโลหะบางชนิดทำให้ Tyr-AuNPs เปลี่ยนสีจึงศึกษาผลของปัสสาวะจำลองและผลของการเจือจางที่ 1.25, 1.50, 1.75 และ 2.00 เท่า เพื่อหาจุดที่ไม่เกิดการเปลี่ยนสี



รูปที่ 13 (ก) สีของ Tyr-AuNPs จับกับปัสสาวะจำลองที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน (ข) ค่าดูดกลืนแสงของ Tyr-AuNPs เมื่อจับกับปัสสาวะจำลองที่มีความเข้มข้นต่างกัน

จากการทดลองพบว่า ไม่พบการเปลี่ยนสีเมื่อเจือจางปัสสาวะจำลองลง 2.00 เท่า เนื่องจากความเข้มข้นของไอออนที่ลดลงจึงไม่ส่งผลต่อ Tyr-AuNPs

3.10. วิเคราะห์ Tyr-AuNPs ปัสสาวะจำลองเจือจางปกติและมี spermidine เมื่อเป็นโรคมะเร็ง



รูปที่ 14 (ก) สีของสารละลาย Tyr-AuNPs จับกับปัสสาวะจำลองและจับกับปัสสาวะจำลองที่มี Spermidine (ข) ค่าการดูดกลืนแสงของ Tyr-AuNPs เมื่อจับกับปัสสาวะจำลองที่มีความเข้มข้นต่างกัน

สรุปผล

จากการศึกษาการสังเคราะห์ Tyr-AuNPs พบว่าสามารถสังเคราะห์ได้อนุภาคทรงกลมขนาดเฉลี่ย 8.99 ± 0.17 nm ที่ pH 9.36 โดยใช้ L-Tyrosine 3.0 μ mol ต่อ HAuCl₄ 10 μ mol ที่ 80 °C มีค่า λ_{max} ประมาณ 520 nm และมีเสถียรภาพที่อุณหภูมิห้องในสภาวะไม่มีแสง อนุภาคสามารถตรวจจับ Spermidine ได้อย่างจำเพาะ โดยเกิดการเปลี่ยนสีตามความเข้มข้นของ Spermidine ขณะที่สารรบกวนในปัสสาวะมีผลน้อย แสดงศักยภาพในการพัฒนาเป็นชุดตรวจคัดกรองมะเร็งต่อมลูกหมากเบื้องต้นที่ใช้งานง่าย รวดเร็ว และมีความจำเพาะสูง

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้จัดทำขอขอบคุณ นางสาวปิยะวรรณ ปัญญาโส ครูที่ปรึกษาโครงการ รศ.ดร.ศรัณพงค์ ยิ้มกลิ่น อาจารย์ที่ปรึกษาพิเศษ และทางโรงเรียนของคณะผู้จัดทำที่ให้การแนะนำ สนับสนุน และส่งเสริมจนโครงการนี้สำเร็จ

เอกสารอ้างอิง

- Hall, R., Bancroft, E., Pashayan, N., Kote-Jarai, Z. & Eeles, R. A. **Genetics of prostate cancer: a review of latest evidence.** *J Med Genet* 61, 915–926 (2024).
- Hugosson, J. *et al.* **A 16-yr Follow-up of the European Randomized study of Screening for Prostate Cancer.** *EurUrol* 76, 43–51 (2019).
- Ju, J.-J., Lu, C.-X. & Jan, J.-S. **Synthesis of Gold Nanowire Networks and Nanoparticles by Tyrosine Reduction of Chloroaurate.** *J Nanosci Nanotechnol* 12, 2802–2809 (2012).

Lojanapiwat, B. *Et al.* **Correlation and diagnostic performance of the prostate-specific antigen level with the diagnosis, aggressiveness, and bone metastasis of prostate cancer in clinical practice.** *Prostate Int* 2, 133–139 (2014).

Lopez-Valcarcel, M. *et al.* **Biomarkers in Localized Prostate Cancer: From Diagnosis to Treatment.** *Int J Mol Sci* 26, 7667 (2025).

Noble, K. A., Chan, H. K. Y. & Kavanagh, O. N. **Meta-analysis guided development of a standard artificial urine.** *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 198, 114264 (2024).

Rawat, K. A., Bhamore, J. R., Singhal, R. K. & Kailasa, S. K. **Microwave assisted synthesis of tyrosine protected gold nanoparticles for dual (colorimetric and fluorimetric) detection of spermine and spermidine in biological samples.** *Biosens Bioelectron* 88, 71–77 (2017).

Saibaba, K., Noorjahan, M., Das, P., Dominic, S. & Bhavyasree, P. **Establishing Reference Intervals for Biochemical Analytes in Spot (Random) Urine Samples.** *Indian Journal of Medical Biochemi*

Seibert, T. M. *et al.* **Genetic Risk Prediction for Prostate Cancer: Implications for Early Detection and Prevention.** *Eur Urol* 83, 241–248 (2023)