

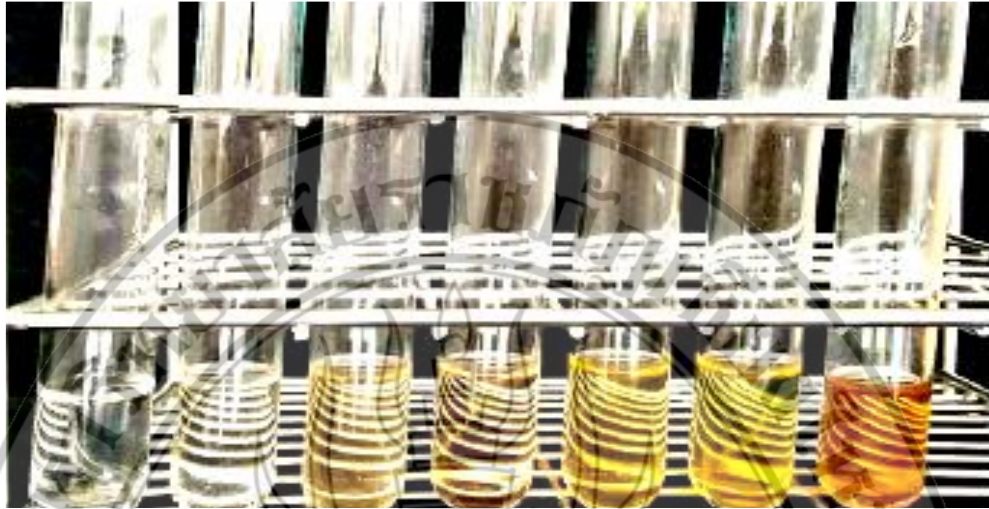
## บทที่ 4 ผลการวิจัย

### 4.1 ผลการสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนด้วยสารละลายจากเซลล์แอคติโนมัยซีทเป็นตัวรีดิวซ์

จากการทดสอบความสามารถของสารละลาย intracellular fluid และ สารละลาย extracellular fluid ของเซลล์ของแอคติโนมัยซีททั้งหมด 52 ไอโซเลต ในการเป็นตัวรีดิวซ์ให้เกิดการสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนด้วยการทำปฏิกิริยากับสารละลาย  $AgNO_3$  พบว่า ตัวอย่างของสารละลาย intracellular fluid สามารถรีดิวซ์ให้เกิดการสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนได้จำนวน 35 ไอโซเลต ในขณะที่สารละลาย extracellular fluid สามารถรีดิวซ์ให้เกิดการสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนได้ทั้งหมด 46 ไอโซเลต ซึ่งจะมีการชักนำให้เกิดการสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโน (ตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.1) โดยจะเกิดการเปลี่ยนแปลงของสีสารละลายเป็นสีเหลืองถึงสีส้มหรือน้ำตาลหลังจากเติม  $AgNO_3$  ภายใต้สภาวะป่มในที่มืดอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ซึ่งความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ให้เกิดการสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนพบว่ามีความสามารถรีดิวซ์ได้มากขึ้นแตกต่างกันออกไป โดยสารละลายที่เปลี่ยนเป็นสีเหลืองจางๆ ให้ผลบวกหนึ่ง (+1) แสดงถึงความสามารถในการรีดิวซ์ให้เกิดการสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนได้น้อย ส่วนลักษณะสารละลายที่เปลี่ยนเป็นสีเหลืองจะให้ผลบวกสอง (+2) แสดงถึงความสามารถในการรีดิวซ์ให้เกิดการสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนปานกลาง ในขณะที่สีส้มถึงน้ำตาลของสารละลายที่ให้ผลบวกสาม (+3) บ่งบอกว่าสามารถรีดิวซ์ให้เกิดการสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนได้สูง (ภาพที่ 4.2)

ตารางที่ 4.1 ความสามารถของสารละลายจากเซลล์แอคติโนมัยซีททั้งหมด 52 ไอโซเลต ในการรีดิวซ์ให้เกิดการสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนภายใน 72 ชั่วโมง

การเปลี่ยนสี ของสารละลาย	อ่านผล	สารละลาย		สารละลาย	
		Intracellular fluid		Extracellular fluid	
		จำนวน ไอโซเลต	%	จำนวน ไอโซเลต	%
ไม่เปลี่ยนสี	-	17	32.7	6	11.5
สีเหลืองจาง	+1	15	28.8	12	23.1
สีเหลือง	+2	11	21.2	20	38.5
สีส้มน้ำตาล	+3	9	17.3	14	26.9



อ่านผล (-) (-) (+1) (+1) (+2) (+2) (+3)

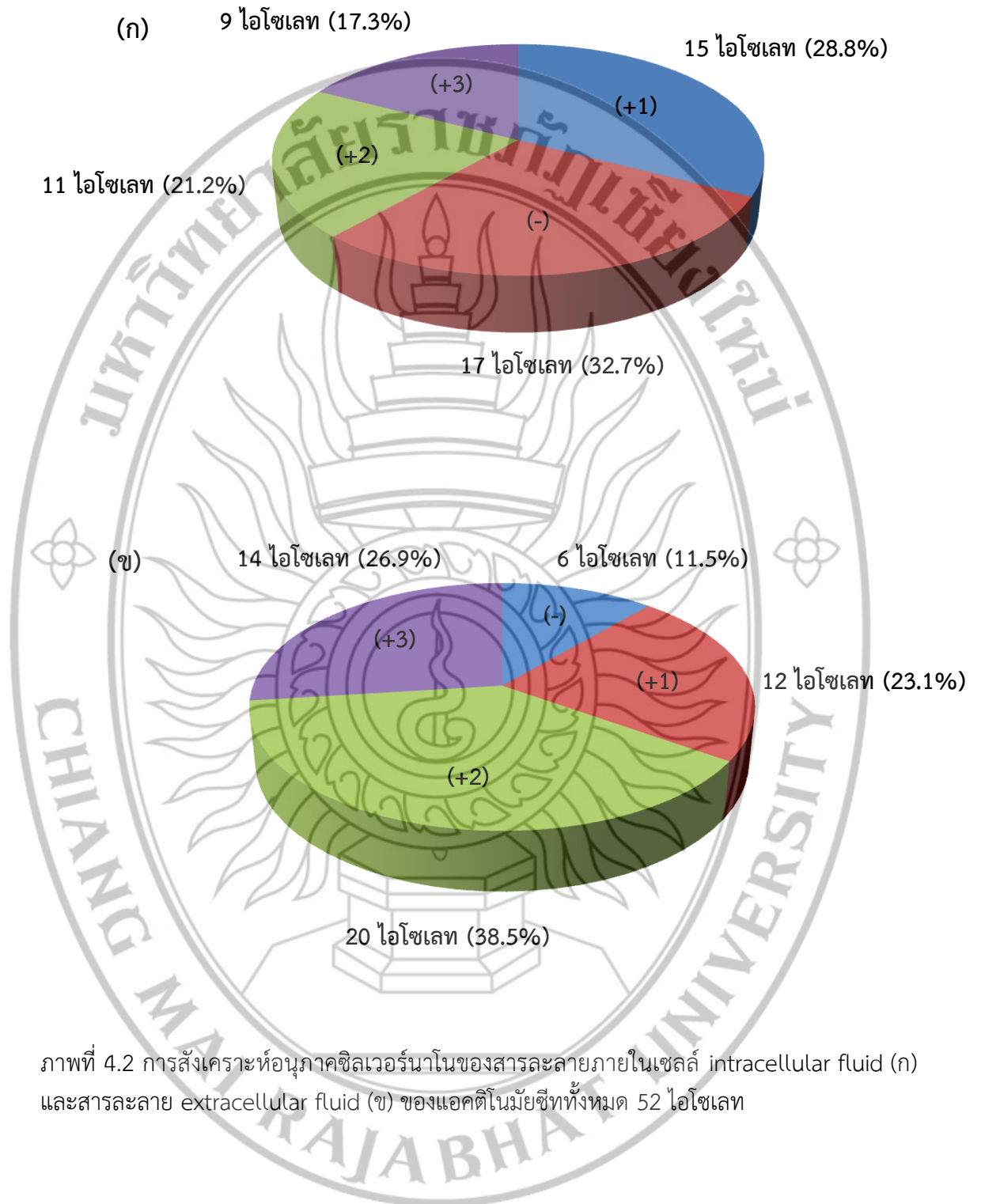
ภาพที่ 4.1 การเปลี่ยนสีของสารละลายของแอกติโนมัยซีทของที่เกิดการสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนที่ทำปฏิกิริยากับสารละลาย  $\text{AgNO}_3$  ภายในระยะเวลา 72 ชั่วโมง

แสดงให้เห็นว่าสารชีวโมเลกุลที่อยู่ในสารละลาย intracellular fluid และ extracellular fluid ของเซลล์แอกติโนมัยซีทสามารถเป็นตัวรีดิวซ์ให้เกิดการสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนเมื่อเติมสารละลายเกลือของโลหะ  $\text{AgNO}_3$  ได้ การเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย intracellular fluid และ extracellular fluid ของเซลล์แอกติโนมัยซีทเกิดจากการทำปฏิกิริยากับสารละลายของ  $\text{AgNO}_3$  ดังนี้  $2\text{AgNO}_3 (\text{s}) + \text{cellular fluid} (\text{aq}) \rightarrow 2\text{Ag} (\text{s}) + \text{O}_2 (\text{g}) + 2\text{NO}_2 (\text{g}) + \text{cellular fluid} (\text{aq})$  โดยสีที่เกิดขึ้นแสดงว่ามีการเกิดปฏิกิริยาจนสมบูรณ์ (Pani et al., 2016)

โดยการสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนทางชีวภาพจากจุลินทรีย์ด้วยวิธี intracellular biosynthesis เป็นปฏิกิริยา reduction ของไอออนโลหะ (metal ions) ที่เยื่อหุ้มเซลล์บริเวณท่อนสาย mycelium ทำให้เกิดการชักนำให้เกิดการสังเคราะห์อนุภาคนาโน ซึ่งบริเวณดังกล่าวจะเกิดการจับกันระหว่างประจุบวกของซิลเวอร์ไอออน ( $\text{Ag}^+$ ) กับประจุลบของหมู่คาร์บอกซิลที่โมเลกุลเอนไซม์จากผนังเซลล์ของท่อนสาย mycelium ด้วยปฏิกิริยา electrostatic interactions โดยอนุภาคของ  $\text{Ag}^+$  จะถูกรีดิวซ์ด้วยเอนไซม์แล้วนำไปสู่การเกิดและสะสมของ silver ในส่วนของนิวเคลียสของแอกติโนมัยซีท *Streptomyces* sp. LK3 (Karthik et al., 2014) นอกจากนี้มีการสนับสนุนจาก ที่รายงานเอนไซม์ NADH-dependent nitrate reductase ที่เกี่ยวข้องกับ nitrogen cycle ในการเปลี่ยน nitrate เป็น nitrite เป็นเอนไซม์ที่เป็นปัจจัยสำคัญในการสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนของเซลล์ ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ว่าการสังเคราะห์อาจเกิดจากกระบวนการ electron shuttle กระบวนการ enzymatic metal reduction process

ในส่วนของสารละลาย extracellular fluid จากแอคติโนมัยซีทที่สามารถชักนำให้เกิดการสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโน ได้มีการสนับสนุนจากงานวิจัยของ Roy et al. (2013) ที่รายงานว่า เอนไซม์ nitrate reductase ซึ่งเป็น extracellular enzyme ที่สร้างและปล่อยออกมาภายนอกเซลล์จุลินทรีย์ สามารถรีดิวซ์ไอออนโลหะของ  $Ag^+$  เป็นศูนย์ ( $Ag^0$ ) จึงชักนำให้เกิดการสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนเกิดขึ้น นอกจากนี้ยังมีการรายงานว่าเอนไซม์ NADH-dependant nitrate reductase เป็นเอนไซม์หลักที่เซลล์สร้างและปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ ซึ่งสามารถเกิดปฏิกิริยารีดักชันในการรีดิวซ์ประจุของโลหะ  $Ag^+$  ในจุลินทรีย์ *Fusarium oxysporum* *Aspergillus foetidus* และ *Bacillus licheniformis* (Rahim et al., 2017)

นอกจากนี้จากงานวิจัยของ Shetty et al. (2012) ที่มีการศึกษาสเปกตรัมของ fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR spectra) ของอนุภาคซิลเวอร์นาโนจากแอคติโนมัยซีท *Streptomyces albidoflavus* CNP10 พบว่าในสารละลายอนุภาคซิลเวอร์นาโนของการรีดิวซ์ด้วยสารละลาย extracellular และ intracellular fluid พบโปรตีนบริเวณพื้นผิวของอนุภาคซิลเวอร์นาโนทางชีวภาพ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าโปรตีนที่เกิดจากกระบวนการเมทาบอลิซึมของเซลล์จุลินทรีย์จะเป็นสาร capping agents ช่วงที่มีการสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนและป้องกันไม่ให้เกิดการรวมตัวจับกลุ่มของอนุภาคซิลเวอร์นาโน ซึ่งความเป็นจริงแล้วหมู่คาร์บอนิล (carbonyl groups) โมเลกุลของกรด amino acid ที่เป็นหน่วยย่อยของโครงสร้าง peptides จะแสดงคุณสมบัติการจับที่แข็งแรงกับโมเลกุลของเงิน โดยแอคติโนมัยซีทสามารถสร้างสารประกอบโปรตีน (extracellular protein) ที่สามารถไปจับกับอนุภาคนาโนที่บริเวณหมู่อิสระของ amine groups บริเวณโมเลกุลของกรดอะมิโน cysteine ที่เป็นองค์ประกอบของโครงสร้างโปรตีน และสามารถจับกับอนุภาคนาโนระหว่างที่เกิดการสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโน



ภาพที่ 4.2 การสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนของสารละลายภายในเซลล์ intracellular fluid (ก) และสารละลาย extracellular fluid (ข) ของแอคติโนมัยซีทั้งหมด 52 ไอโซเลท

#### 4.2 ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชของอนุภาคซิลเวอร์นาโนจากสารละลาย intracellular fluid และ extracellular fluid ของแอคติโนมัยซีท

เมื่อนำตัวอย่างอนุภาคซิลเวอร์นาโนของแอคติโนมัยซีทที่สังเคราะห์ได้จากสารละลาย intracellular fluid จำนวน 35 ตัวอย่าง และจากสารละลาย extracellular fluid จำนวน 46 ตัวอย่าง มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเชื้อราสาเหตุโรคพืช 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp., *Pyricularia* sp. และ *Alternaria* sp. ด้วยวิธีการ well diffusion test เทียบกับชุดควบคุมไม่มีเติมตัวอย่างอนุภาคซิลเวอร์นาโน เป็นเวลา 7 วัน พบว่าอนุภาคซิลเวอร์นาโนจากสารละลายภายในเซลล์ (intracellular) ของแอคติโนมัยซีท มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ในระดับปานกลาง (26-50%) โดยมีค่า %การยับยั้งเฉลี่ยของอนุภาคซิลเวอร์นาโนต่อการเจริญของเชื้อราแต่ละสายพันธุ์ 22.0-33.4% (ตารางที่ 4.2)

ส่วนผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชของอนุภาคซิลเวอร์นาโนจากสารละลาย extracellular fluid ของแอคติโนมัยซีท พบว่า มีค่าการยับยั้งเฉลี่ยของอนุภาคซิลเวอร์นาโนต่อการเจริญของเชื้อรา 20.5-54.9% ซึ่งจัดอยู่ในระดับประสิทธิภาพปานกลาง โดยเมื่อเปรียบเทียบการยับยั้งการเจริญเชื้อราสาเหตุโรคพืชทั้ง 4 สายพันธุ์ ของตัวอย่างอนุภาคซิลเวอร์นาโนจากแอคติโนมัยซีททั้งหมด พบว่า อนุภาคซิลเวอร์นาโนของสารละลายภายนอกเซลล์ของแอคติโนมัยซีทไอโซเลท DSK-3 สามารถยับยั้งการเจริญเชื้อราได้ดีที่สุด โดยมีการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* sp. สูงที่สุดเท่ากับ 73.2% รองลงมาได้แก่ *Colletotrichum* sp. *Fusarium* sp. และ *Pyricularia* sp. ซึ่งมี % การยับยั้ง เท่ากับ 69.4%, 36.5% และ 24.7% ตามลำดับ (ตารางที่ 4.3) โดยโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่เติมอนุภาคซิลเวอร์นาโน มีการเจริญของโคโลนีได้น้อยกว่าเมื่อเทียบกับชุดควบคุม (ภาพที่ 4.3) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าอนุภาคซิลเวอร์นาโนสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้

ตารางที่ 4.2 ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชของอนุภาคซิลเวอร์นาโนจากสารละลาย intracellular fluid ของแอคติโนมัยซีท จำนวน 35 ตัวอย่าง

ลำดับ	อนุภาค ซิลเวอร์นาโน (ไอโซเลท)	% การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช*			
		<i>Colletotrichum</i> sp.	<i>Pyricularia</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Alternaria</i> sp.
1	CD-1	35.3	23.9	21.5	30.7
2	CD-3	25.1	18.2	23.7	37.8
3	CD-5	38.7	25.0	33.2	31.5
4	CD-7	30.5	21.8	31.5	27.3
5	CD-10	32.5	28.1	20.7	38.9
6	CD-11	21.2	15.7	15.3	37.8
7	CD-12	37.5	24.3	29.2	31.4
8	DSK-2	23.7	12.5	23.7	34.7
9	DSK-3	28.7	16.2	35.3	39.3
10	DSK-4	32.5	17.8	21.3	32.7
11	DSK-7	30.0	25.2	24.7	24.8
12	DSK-9	38.7	16.3	15.4	27.2
13	DSK-10	23.5	25.6	16.5	19.4
14	F-1	28.2	28.5	23.7	14.8
15	F-2	25.4	25.0	28.2	21.4
16	F-3	26.2	18.1	26.5	38.7
17	F-7	28.7	22.6	29.8	17.8
18	F-8	22.7	26.2	30.7	35.4

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

% การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช*					
ลำดับ	อนุภาค ซิลเวอร์นาโน (ไอโซเลท)	<i>Colletotrichum</i> sp.	<i>Pyricularia</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Alternaria</i> sp.
19	F-10	35.0	17.1	33.5	39.5
20	F-13	38.7	25.0	23.7	29.8
21	MT-3	40.0	15.9	27.9	37.1
22	MT-4	29.5	25.6	25.8	36.8
23	MT-5	36.2	22.5	39.2	28.5
24	MT-6	22.5	26.3	40.7	47.3
25	MT-8	31.3	28.7	45.3	36.1
26	MT-10	42.5	31.3	37.9	45.7
27	MT-13	35.0	23.8	36.1	31.4
28	MR-4	30.0	18.1	35.8	37.5
29	MR-5	48.8	23.7	33.7	32.4
30	MR-6	41.3	11.2	43.4	38.7
31	MR-7	32.8	26.5	41.9	34.2
32	MR-9	35.0	18.2	36.5	35.0
33	MR-12	35.0	22.7	30.7	32.1
34	MR-15	35.0	16.2	35.8	44.2
35	MR-16	42.5	25.0	33.7	40.1
ค่าเฉลี่ย		32.6	22.0	30.1	33.4

หมายเหตุ \*ค่าเฉลี่ยของ %การยับยั้ง (N= 3)

ตารางที่ 4.3 ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชของอนุภาคซิลเวอร์นาโนจากสารละลาย extracellular fluid ของแอคติโนมัยซีท จำนวน 46 ตัวอย่าง

ลำดับ	อนุภาค ซิลเวอร์นาโน (ไอโซเลท)	% การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช			
		<i>Colletotrichum</i> sp.	<i>Pyricularia</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Alternaria</i> sp.
1	CD-2	53.1	20.7	18.9	61.2
2	CD-3	55.7	28.2	15.7	39.3
3	CD-5	45.2	15.3	29.6	52.5
4	CD-6	43.8	17.1	20.9	49.7
5	CD-7	54.9	22.5	27.5	61.9
6	CD-8	61.4	15.2	28.4	57.2
7	CD-9	59.4	24.1	27.8	63.4
8	CD-11	67.1	21.8	33.9	55.2
9	CD-13	56.1	12.2	24.8	47.5
10	DSK-1	41.9	25.1	20.4	49.3
11	DSK-3	69.4	36.5	24.7	73.2
12	DSK-4	51.4	12.3	27.2	60.8
13	DSK-5	57.2	20.7	23.8	57.7
14	DSK-7	43.9	29.8	30.5	57.3
15	DSK-8	35.4	17.8	26.7	51.5
16	DSK-9	42.9	21.3	19.4	35.8
17	DSK-10	53.7	20.2	28.0	47.5



ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

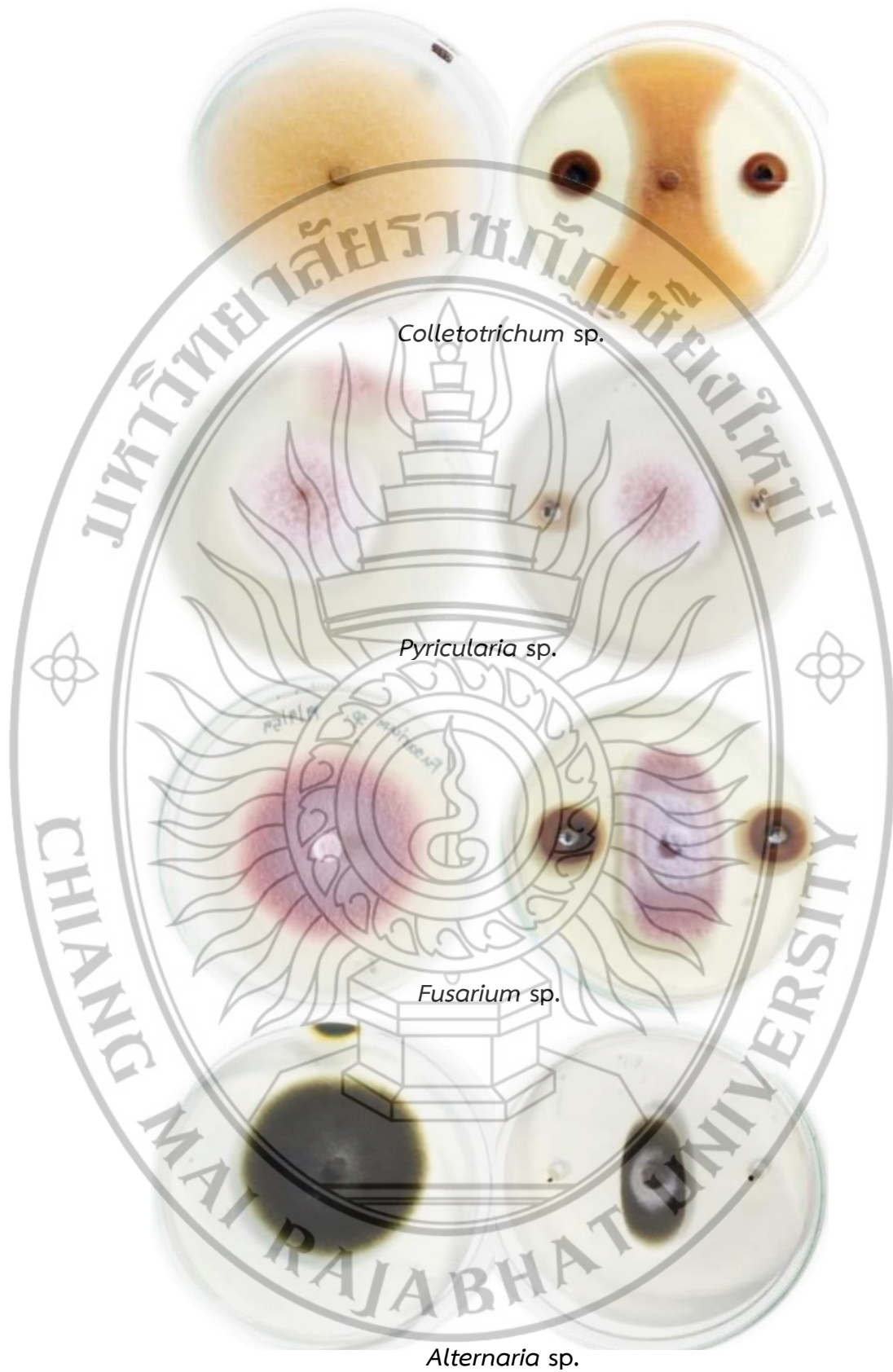
ลำดับ	อนุภาค ซิลเวอร์นาโน (ไอโซเลท)	% การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช			
		<i>Colletotrichum</i> sp.	<i>Pyricularia</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Alternaria</i> sp.
18	F-1	44.8	11.5	15.4	53.3
19	F-3	43.8	14.9	23.1	63.8
20	F-4	55.1	19.6	37.0	52.9
21	F-6	47.5	24.4	16.3	61.9
22	F-7	65.4	17.1	15.5	56.7
23	F-8	56.8	21.4	27.7	56.3
24	F-9	32.9	26.7	28.4	58.7
25	F-10	44.2	19.3	26.7	47.4
26	F-12	53.7	22.7	18.2	55.9
27	MT-1	41.7	29.0	23.0	53.4
28	MT-2	54.5	11.3	27.0	49.0
29	MT-4	61.3	18.0	25.4	57.2
30	MT-5	55.7	22.1	26.3	65.4
31	MT-6	57.4	25.7	23.4	56.9
32	MT-8	48.5	16.3	19.1	53.6
33	MT-9	60.2	13.1	21.7	50.4
34	MT-12	34.2	20.8	17.5	53.1
35	MT-13	38.1	23.7	22.4	61.5

ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

ลำดับ	อนุภาค ซิลเวอร์นาโน (ไอโซเลท)	% การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช			
		<i>Colletotrichum</i> sp.	<i>Pyricularia</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Alternaria</i> sp.
36	MR-1	42.6	21.9	34.0	46.7
37	MR-3	47.5	23.4	21.0	63.3
38	MR-4	50.4	19.0	19.0	50.3
39	MR-6	43.1	18.4	21.7	48.8
40	MR-7	58.7	24.4	19.1	64.2
41	MR-8	50.4	18.0	29.1	46.2
42	MR-11	49.1	15.0	28.6	63.4
43	MR-12	52.8	17.5	18.3	57.0
44	MR-14	43.5	22.9	27.1	61.3
45	MR-16	38.0	26.2	29.0	54.7
46	MR-17	53.8	17.2	31.5	43.1
ค่าเฉลี่ย		50.4	20.5	24.4	54.9

หมายเหตุ \*ค่าเฉลี่ยของ %การยับยั้ง (N= 3)

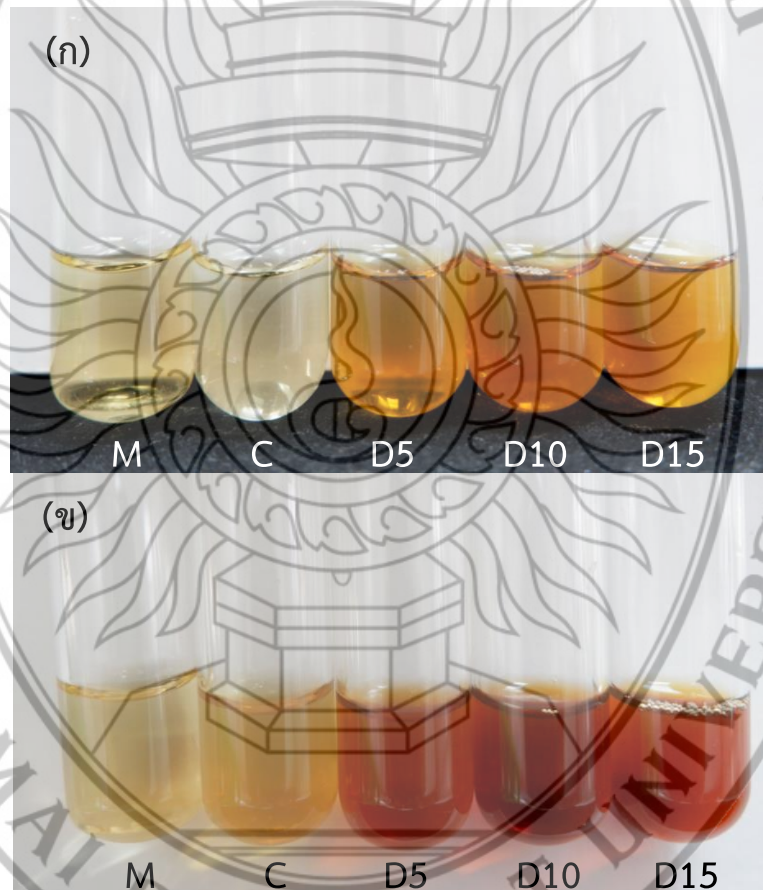
จากผลการทดลองได้คัดเลือกแอคติโนมัยซีทไอโซเลท DSK-3 มาศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนจากน้ำเลี้ยงเซลล์ที่ระยะเวลาต่างๆของการเจริญของเซลล์ กับระดับความเข้มข้นของสารละลาย  $AgNO_3$  ที่เกิดปฏิกิริยาชักนำให้เกิดการสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช พร้อมทั้งศึกษาคูณลักษณะของอนุภาคซิลเวอร์นาโนทางด้านกายภาพและเคมี



ภาพที่ 4.3 การเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 4 สายพันธุ์บนอาหาร PDA ที่เป็นชุดควบคุม (ภาพซ้าย) และบนอาหาร PDA ที่หยดอนุภาคซิลเวอร์นาโนจากสารละลายภายนอกเซลล์ (ภาพขวา)

#### 4.3 ผลการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชของอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์จาก extracellular fluid ของเซลล์ DSK-3 ที่ระยะเวลาและความเข้มข้นของสารละลายเกลือ $\text{AgNO}_3$ ต่างๆ

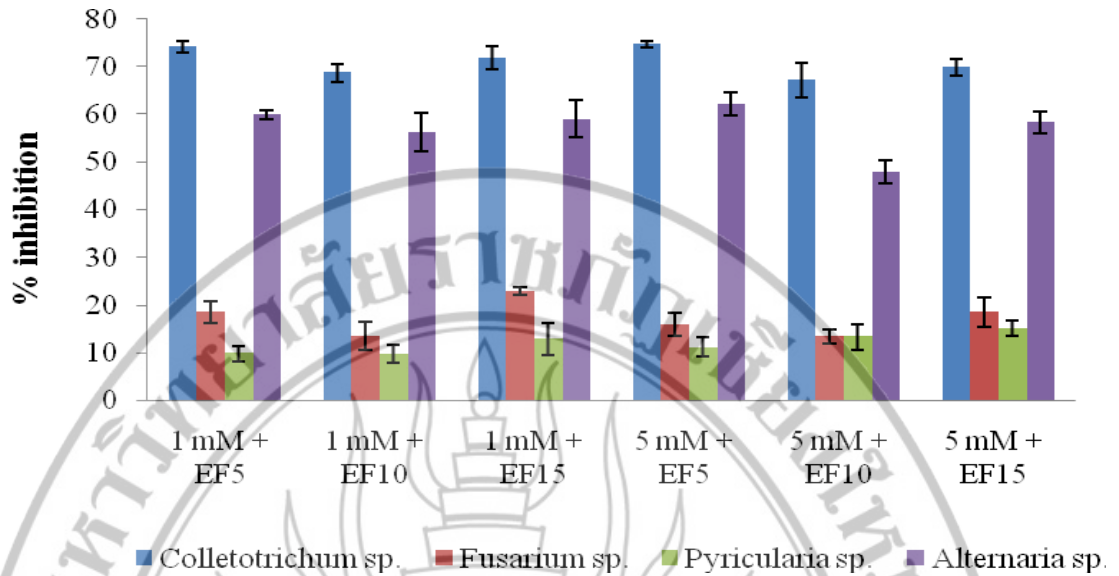
จากการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชทั้ง 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp., *Pyricularia* sp. และ *Alternaria* sp. ของอนุภาคซิลเวอร์นาโนจากสารละลาย extracellular fluid ของแอคติโนมัยซีท DSK-3 ที่เพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 วัน 10 วัน และ 15 วัน ที่มีการเติมสารละลาย  $\text{AgNO}_3$  ความเข้มข้น 1mM และ 5 mM สำหรับชักนำให้เกิดการสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโน ภายใต้สภาวะบ่มในที่มีอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง พบว่าสารละลาย extracellular fluid ของแอคติโนมัยซีทที่เลี้ยงในระยะเวลาต่างๆ สามารถริตวิซซ์ให้เกิดการสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนได้เมื่อเติมสารละลาย  $\text{AgNO}_3$  ความเข้มข้น 1mM และ 5mM โดยเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีของสารละลายเป็นสีเหลืองถึงสีส้มหรือน้ำตาลภายในระยะเวลา 72 ชั่วโมง ดังแสดงในภาพที่ 4.4



ภาพที่ 4.4 การสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนของสารละลาย (extracellular fluid, EF) จากเซลล์แอคติโนมัยซีท DSK-3 ที่เพาะเลี้ยงระยะเวลาต่างๆ หลังทำปฏิกิริยากับสารละลาย 1mM  $\text{AgNO}_3$  (ก) และ 5mM  $\text{AgNO}_3$  (ข) ภายในระยะเวลา 72 ชั่วโมง (M= Medium; YM broth, C= Control; YM+ $\text{AgNO}_3$ , D5= EFDay5+  $\text{AgNO}_3$ , D5=EF Day10+  $\text{AgNO}_3$  และ D15=EF Day15+  $\text{AgNO}_3$ )

ตัวอย่างอนุภาคซิลเวอร์นาโน (AgNPs) ของสารละลาย extracellular fluid ของเซลล์ แอคติโนมัยซีทไอโซเลท DSK-3 ที่เลี้ยงในระยะเวลาต่างๆ สามารถเป็นตัวรีดิวซ์ (reducing agent) ให้มีการเปลี่ยนสีของสารละลายในชุดทดลองที่มีการเติมสารละลาย 5 mM AgNO<sub>3</sub> ได้มากกว่า สารละลาย AgNO<sub>3</sub> ที่ระดับความเข้มข้น 1 mM ซึ่งแสดงให้เห็นว่าระดับความเข้มข้นของสารละลาย AgNO<sub>3</sub> มีผลต่อการสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโน แล้วเมื่อทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ เชื้อราสาเหตุโรคพืชทั้ง 4 สายพันธุ์ พบว่า อนุภาคซิลเวอร์นาโนมีความสามารถยับยั้งเชื้อ *Colletotrichum* sp. และ *Alternaria* sp. ได้ดีกว่าเชื้อรา *Fusarium* sp. และ *Pyricularia* sp. ในทุกชุดการทดลอง โดยจะมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Colletotrichum* sp. 67.1-74.5% ซึ่งจัดอยู่ในระดับ ประสิทธิภาพสูง ส่วน *Alternaria* sp. มีประสิทธิภาพในการยับยั้งระดับ 47.9-62.0% ปานกลางถึงสูง (ภาพที่ 4.5) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชของอนุภาคซิลเวอร์นาโนจากน้ำเลี้ยง เซลล์ที่เติมสารละลาย AgNO<sub>3</sub> ความเข้มข้น 1mM และ 5mM ในชุดการทดลองที่ระยะเวลาต่างๆ ของน้ำเลี้ยงที่เป็นตัวรีดิวซ์ พบว่า ชุดการทดลองที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ เปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงที่สุดไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p < 0.01$ ) ในตารางที่ 4.4 ซึ่งลักษณะโคโลนี ของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่เจริญบนอาหารแข็งที่มีสารละลายอนุภาคซิลเวอร์นาโนของแต่ละเชื้อในชุด การทดลองที่เติมสารละลายเกลือโลหะ AgNO<sub>3</sub> ความเข้มข้น 1mM (ภาพที่ 4.6-4.7) และชุดการ ทดลองที่เติมสารละลายเกลือโลหะ AgNO<sub>3</sub> ความเข้มข้น 5mM (ภาพที่ 4.8-4.9) ของสารละลายน้ำ เลี้ยงเซลล์แอคติโนมัยซีทที่เลี้ยงเป็นเวลา 5 10 และ 15 วัน เทียบกับชุดควบคุม

จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าน้ำเลี้ยงเซลล์ระยะเวลาต่างๆของแอคติโนมัยซีท DSK-3 มี องค์ประกอบของสารในน้ำเลี้ยงเซลล์เป็นตัวรีดิวซ์ให้เกิดการสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนได้ดีเมื่อ เติมสารละลาย AgNO<sub>3</sub> ที่ระดับความเข้มข้น 5mM AgNO<sub>3</sub> แต่เมื่อนำมายับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช กลับพบว่าอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ไม่มีแตกต่างของฤทธิ์การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชทั้งใน ชุดการทดลองที่เติมสารละลาย AgNO<sub>3</sub> ที่ระดับความเข้มข้น 1mM และ 5mM



ภาพที่ 4.5 การยับยั้งการเจริญเชื้อราสาเหตุโรคพืช 4 สายพันธุ์ ของอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์จากสารละลาย extracellular fluid (EF) ที่ระยะเวลาต่างๆ 5 วัน 10 วัน และ 15 วัน ของแอกติโนมายซีทีไอโซเลท DSK-3 กับสารละลาย  $\text{AgNO}_3$  ความเข้มข้น 1mM และ 5mM

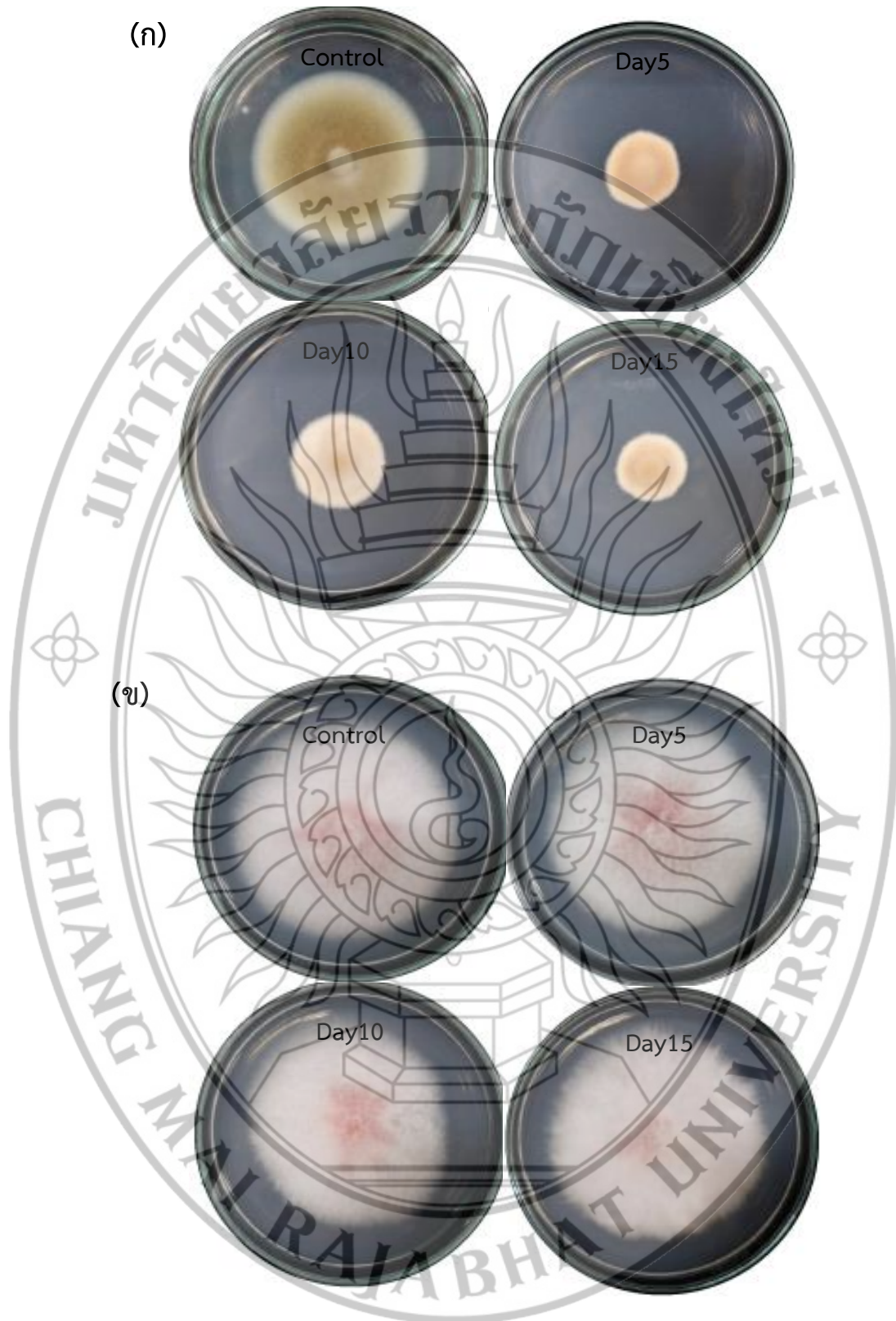
ตารางที่ 4.4 การยับยั้งการเจริญเชื้อราสาเหตุโรคพืชด้วยอนุภาคซิลเวอร์นาโนของน้ำเลี้ยงเซลล์จากเซลล์แอกติโนมายซีที DSK-3 ที่เลี้ยงระยะเวลาต่างๆ กับสารละลาย  $\text{AgNO}_3$  ความเข้มข้น 1mM และ 5mM

อนุภาคซิลเวอร์นาโน	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (%inhibition)			
	<i>Colletotrichum sp.</i>	<i>Fusarium sp.</i>	<i>Pyricularia sp.</i>	<i>Alternaria sp.</i>
1 mM + CF5	74.1 <sup>ab</sup> ± 1.2	18.4 <sup>ab</sup> ± 2.3	9.8 <sup>a</sup> ± 1.6	59.9 <sup>a</sup> ± 0.9
1 mM + CF10	68.6 <sup>bc</sup> ± 1.8	13.4 <sup>b</sup> ± 3.0	9.7 <sup>a</sup> ± 2.0	56.2 <sup>a</sup> ± 4.1
1 mM + CF15	71.8 <sup>abc</sup> ± 2.4	22.9 <sup>a</sup> ± 0.9	12.8 <sup>a</sup> ± 3.4	58.9 <sup>a</sup> ± 3.9
5 mM + CF5	74.5 <sup>a</sup> ± 0.7	15.9 <sup>b</sup> ± 2.3	11.1 <sup>a</sup> ± 2.0	62.0 <sup>a</sup> ± 2.4
5 mM + CF10	67.1 <sup>c</sup> ± 3.6	13.4 <sup>b</sup> ± 1.5	13.3 <sup>a</sup> ± 2.7	47.9 <sup>b</sup> ± 2.4
5 mM + CF15	69.8 <sup>abc</sup> ± 1.8	18.4 <sup>ab</sup> ± 3.1	15.1 <sup>a</sup> ± 1.6	58.3 <sup>a</sup> ± 2.3

หมายเหตุ อักษรภาษาอังกฤษในแต่สดมภ์ของค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของเชื้อราสาเหตุโรคพืชแต่ละสายพันธุ์มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p < 0.01$ )

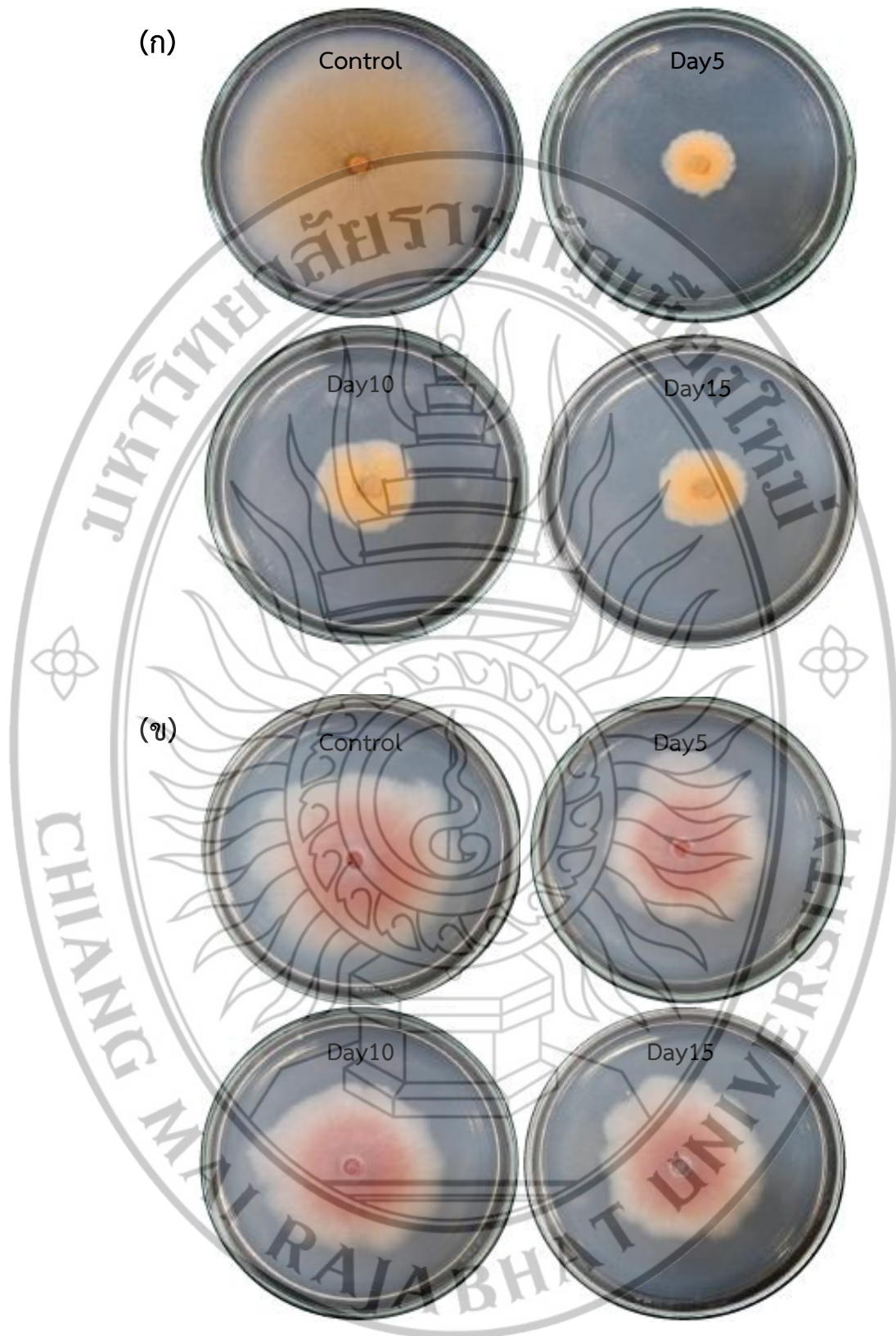


ภาพที่ 4.6 การยับยั้งการเจริญเชื้อราสาเหตุโรคพืช *Colletotrichum* sp. (ก) และ *Fusarium* sp. (ข) ด้วยอนุภาคซิลเวอร์นาโนของสารละลายจากเซลล์แอคติโนมัยซีท DSK-3 ที่เพาะเลี้ยงระยะเวลาต่างๆ หลังทำปฏิกิริยากับสารละลาย  $\text{AgNO}_3$  ความเข้มข้น 1mM

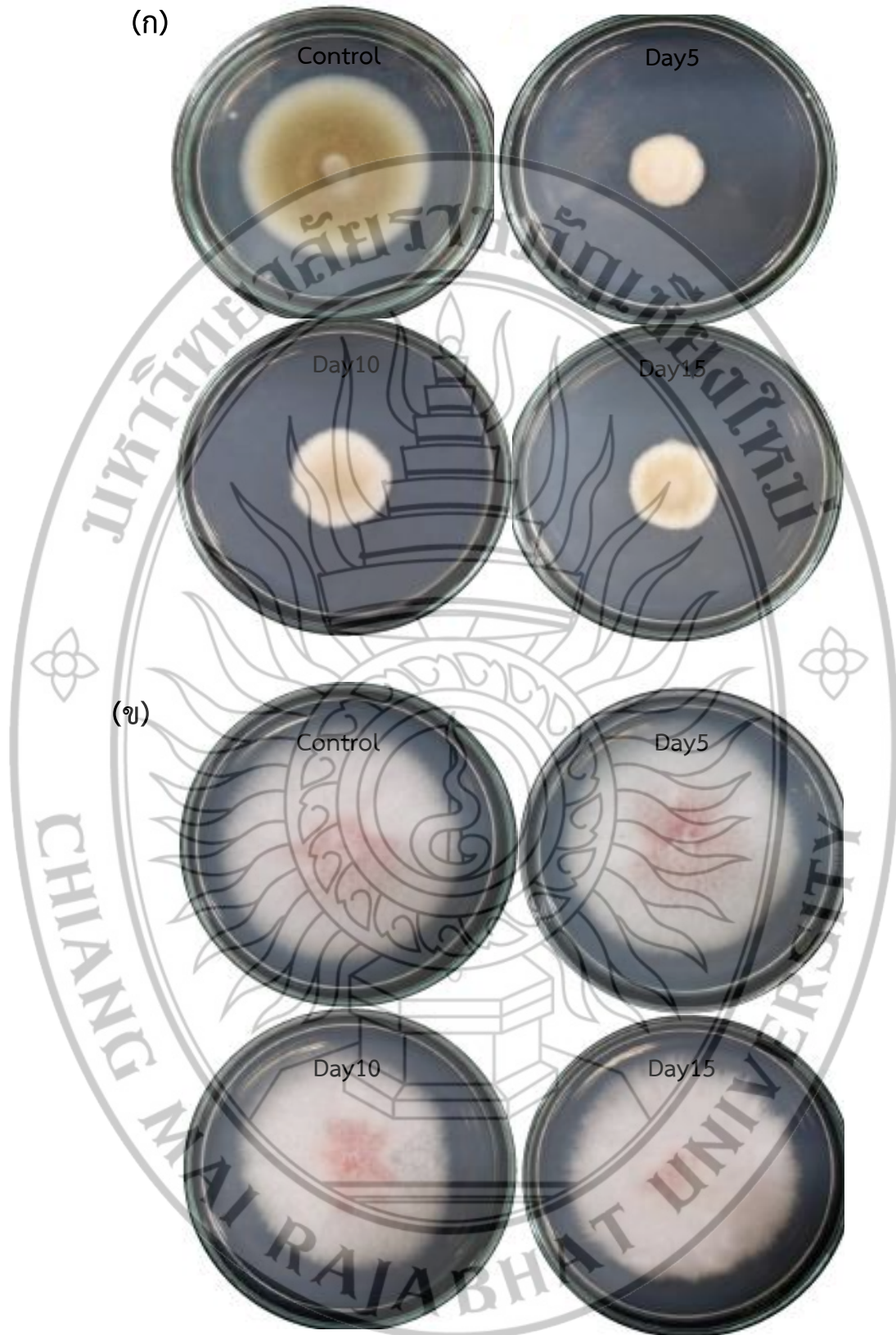


ภาพที่ 4.7 การยับยั้งการเจริญเชื้อราสาเหตุโรคพืช *Alternaria* sp. (ก) และ *Pyricularia* sp. (ข) ด้วยอนุภาคซิลเวอร์นาโนของสารละลายจากเซลล์แอคติโนมัยซีท DSK-3 ที่เพาะเลี้ยงระยะเวลาต่างๆ หลังทำปฏิกิริยากับสารละลาย  $\text{AgNO}_3$  ความเข้มข้น 1mM





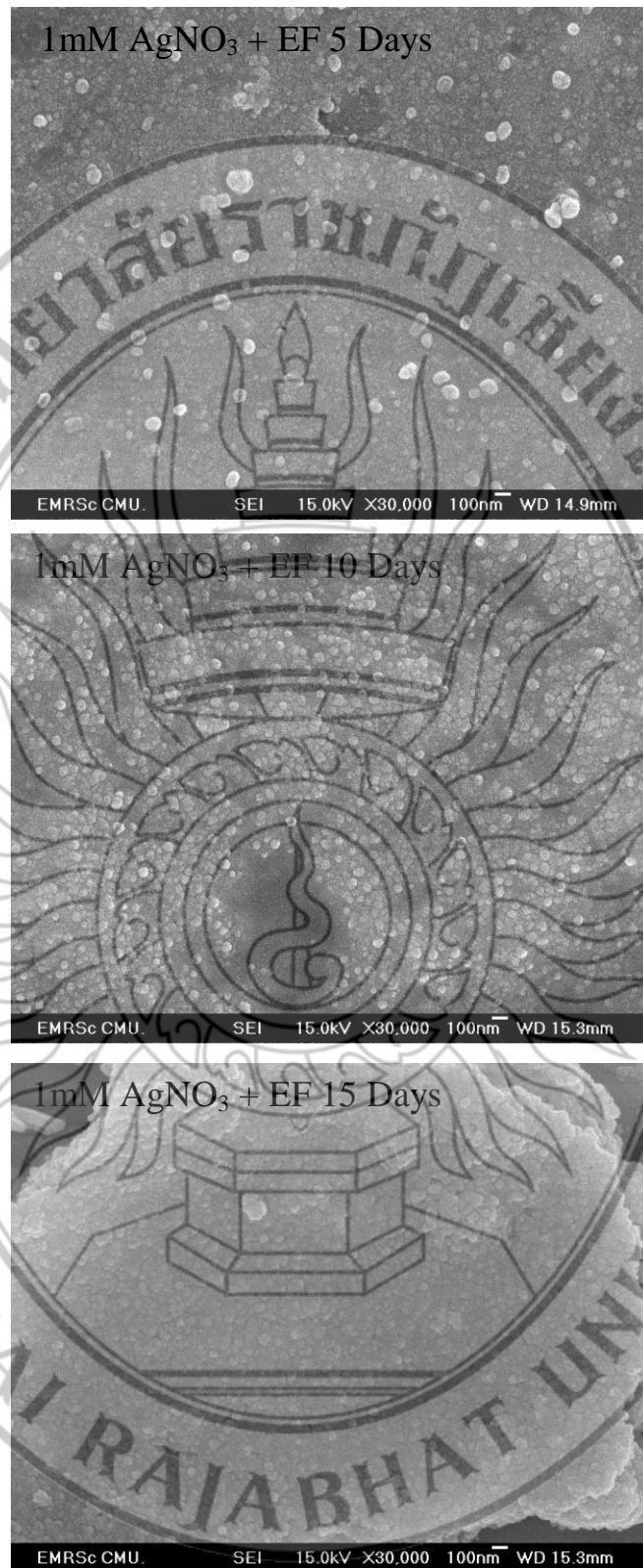
ภาพที่ 4.8 การยับยั้งการเจริญเชื้อราสาเหตุโรคพืช *Colletotrichum* sp. (ก) และ *Fusarium* sp. (ข) ด้วยอนุภาคซิลเวอร์นาโนของสารละลายจากเซลล์แอคติโนมัยซีท DSK-3 ที่เพาะเลี้ยงระยะเวลาต่างๆ หลังทำปฏิกิริยากับสารละลาย  $\text{AgNO}_3$  ความเข้มข้น 5mM



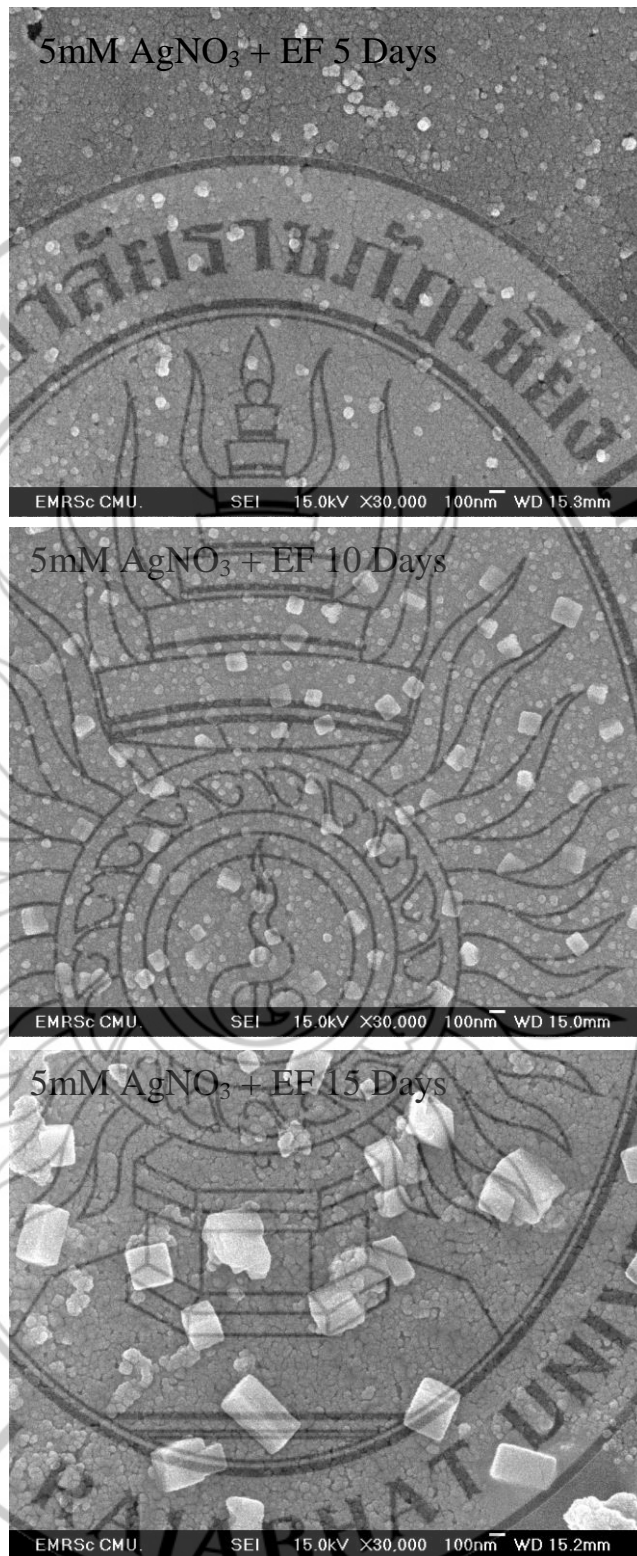
ภาพที่ 4.9 การยับยั้งการเจริญเชื้อราสาเหตุโรคพืช *Alternaria* sp. (ก) และ *Pyricularia* sp. (ข) ด้วยอนุภาคซิลเวอร์นาโนของสารละลายจากเซลล์แอคติโนมัยซีท DSK-3 ที่เพาะเลี้ยงระยะเวลาต่างๆ หลังทำปฏิกิริยากับสารละลาย  $\text{AgNO}_3$  ความเข้มข้น 5mM

#### 4.4 การวิเคราะห์ขนาดรูปร่างและโครงสร้างพื้นผิวของอนุภาคซิลเวอร์นาโนด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

การตรวจสอบขนาด รูปร่าง และสัณฐานวิทยาของอนุภาคซิลเวอร์นาโนด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope; SEM) พบว่าอนุภาคซิลเวอร์นาโนจากสารละลาย extracellular fluid (EF) ของแอคติโนมัยซีทไอโซเลท DSK-3 ที่เกิดการสังเคราะห์ด้วยการเติมสารละลาย 1mM AgNO<sub>3</sub> และ 5mM AgNO<sub>3</sub> มีขนาดและรูปร่างแตกต่างกัน โดยอนุภาคซิลเวอร์นาโนของสารละลาย extracellular fluid ที่เติมสารละลาย 1mM AgNO<sub>3</sub> มีลักษณะรูปร่างกลม (spherical) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 50-100 นาโนเมตร (ภาพที่ 4.10) ในขณะที่อนุภาคซิลเวอร์นาโนของสารละลาย extracellular fluid ที่เติมสารละลาย 5mM AgNO<sub>3</sub> มีรูปร่างเป็นทรงสี่เหลี่ยม (cuboidal) มีขนาดความกว้างประมาณ 100 นาโนเมตร และความยาวประมาณ 100-400 นาโนเมตร (ภาพที่ 4.11) แสดงให้เห็นว่าอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่เตรียมได้จากการเติมด้วยสารละลายเกลือ AgNO<sub>3</sub> ที่ระดับความเข้มข้นต่างกันมีผลต่อลักษณะรูปร่างของอนุภาคซิลเวอร์นาโน โดยอนุภาคซิลเวอร์นาโนของสารละลาย extracellular fluid ในวันที่ 15 จะมีจำนวนอนุภาคซิลเวอร์นาโนหนาแน่นมากกว่าในตัวอย่างจากสารละลาย extracellular fluid ในวันที่ 5 และ 10 และยังพบว่าเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของสารละลายเกลือ AgNO<sub>3</sub> ที่เติมลงไปทำปฏิกิริยา พบว่าทำให้ขนาดของอนุภาคซิลเวอร์นาโนมีขนาดใหญ่ขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Phanjom and Ahmed (2017) พบว่าเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของสารละลาย AgNO<sub>3</sub> จาก 1mM ถึง 8mM AgNO<sub>3</sub> พบว่าทำให้อนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้มีขนาดใหญ่ขึ้นการรื้อตัวของน้ำเลี้ยงเซลล์ของเชื้อรา *Aspergillus oryzae* MTCC No.1846 เช่นเดียวกับผลของอนุภาคซิลเวอร์นาโนจากน้ำเลี้ยงเซลล์ของ *Penicillium* sp ที่เพิ่มความเข้มข้นสารละลาย AgNO<sub>3</sub> จาก 0.5mM เป็น 2mM พบว่าส่งผลทำให้ขนาดของอนุภาคซิลเวอร์นาโนจะมีขนาดใหญ่ขึ้น (Singh et al., 2014) ในขณะที่ผลของการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย AgNO<sub>3</sub> ที่ระดับความเข้มข้น 5mM AgNO<sub>3</sub> เพื่อรื้อตัวน้ำเลี้ยงเซลล์ของ *Escherichia coli* strain DH5 ให้เกิดการสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนกลับพบว่าทำให้อนุภาค ซิลเวอร์นาโนมีขนาดลดลง



ภาพที่ 4.10 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน SEM ของอนุภาคระดับนาโนเมตรของอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่ได้จากการรีดิวซ์ด้วยสารละลาย extracellular fluid (EF) ในวันที่ 5 10 และ 15 วันของแอคติโนมัยซีทไฮโซเลท DSK-3 ที่ทำปฏิกิริยากับสารละลาย 1mM AgNO<sub>3</sub>



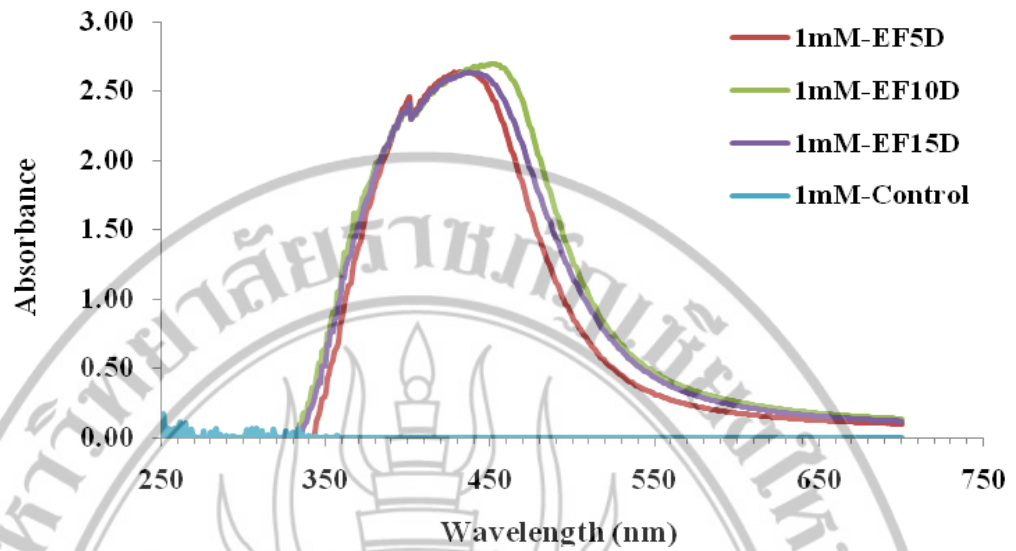
ภาพที่ 4.11 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน SEM ของอนุภาคระดับนาโนเมตรของอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่ได้จากการรีดิวซ์ด้วยสารละลาย extracellular fluid (EF) ในวันที่ 5 10 และ 15 ของแอกติโนมัยซีทไอโซเลท DSK-3 ที่ทำปฏิกิริยากับสารละลาย 5mM AgNO<sub>3</sub>

นอกจากนี้ Gurnathan et al (2009) ยังได้มีการศึกษาสภาวะและปัจจัยที่มีผลต่อการสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนจากความแตกต่างของอาหาร เลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ (cultural medium) ความเข้มข้นของสารละลาย  $\text{AgNO}_3$  อุณหภูมิ และ pH พบว่า สภาวะที่ใช้ในการเร่งการเกิดปฏิกิริยาการสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนจากสารละลายส่วนใสน้ำเลี้ยงเซลล์ (culture supernatant) ของ *Escherichia coli* ได้สูงที่สุด (maximum synthesis) เมื่อใช้อาหารเหลว nitrate medium และใช้สารละลายเกลือโลหะ  $\text{AgNO}_3$  ที่ความเข้มข้น 5mM ภายใต้อุณหภูมิ  $60^\circ\text{C}$  และ pH 10.0 โดยอนุภาคซิลเวอร์นาโนมีขนาด 10-90 nm ซึ่งเมื่อใช้อุณหภูมิต่ำที่  $10^\circ\text{C}$  และสูงกว่า  $60^\circ\text{C}$  พบว่าไม่มีการสังเคราะห์อนุภาคนาโน เนื่องจากโมเลกุลของเอนไซม์จากเซลล์จุลินทรีย์ซึ่งเป็นโปรตีนไม่ทำงานเร่งปฏิกิริยา (inactivation) หรือเกิดการเสียสภาพ (denaturation) ในขณะที่ Rahim et al. (2017) ได้มีการศึกษาสารละลายของเกลือโลหะ Ag ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 1mM 10mM และ 100mM ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนภายใต้อุณหภูมิ  $40^\circ\text{C}$  พบว่าที่ความเข้มข้น 10mM สามารถสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนได้ขนาดเล็กที่สุด  $2.86 \pm 0.3$  nm ในขณะที่ความเข้มข้น 1mM และ 100mM สามารถสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนได้ขนาดอนุภาคใหญ่เท่ากับ  $14.23 \pm 1.3$  nm และ  $54.67 \pm 4.1$  nm ตามลำดับ ซึ่งไอออนของโลหะเกลือจำนวนมากที่ระดับความเข้มข้น 100mM ส่งผลทำให้อนุภาคนาโนมาขนาดใหญ่ ส่วน Li et al. (2011) ได้ศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคนาโนด้วยแอกติโนมัยซีทด้วยสารละลาย Au(I)-thiosulfate และ Au(III)-chloride พบว่า อนุภาคนาโนที่เกิดขึ้นมีรูปร่างแตกต่างกันทั้งแบบรูปร่างกลม (spherical shape) รูปทรงสี่เหลี่ยม (cubic shape) และ รูปทรงแปดเหลี่ยม (octahedral shape) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าคุณสมบัติของอนุภาคซิลเวอร์นาโนทางด้านคุณลักษณะของขนาด (size) จะมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ที่เป็นแหล่งชีวภาพในการสังเคราะห์ ส่วน Shetty et al. (2012) ได้มีการรายงานอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์จากแอกติโนมัยซีท *Phaenerochaete chrysosporium* มีขนาด 5-200 nm รูปทรงของผลึกอนุภาคนาโนเป็นรูปทรงพีระมิด (pyramidal) ในขณะที่อนุภาคซิลเวอร์นาโนจากจุลินทรีย์สายพันธุ์ *Coriolus versicolor* มีรูปร่างกลม (spherical) ขนาด 25-75 nm ส่วนเชื้อรา *Penicillium brevicompactum* สามารถสังเคราะห์อนุภาคนาโนรูปร่างกลม (spherical) ขนาด 58.35 nm ซึ่งแสดงให้เห็นว่า พันธุกรรมของสายพันธุ์ของจุลินทรีย์มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการควบคุมการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทางชีวภาพ โดยอนุภาคซิลเวอร์นาโนจากแอกติโนมัยซีทส่วนใหญ่จะมีรูปร่างกลม มีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 14.5 nm

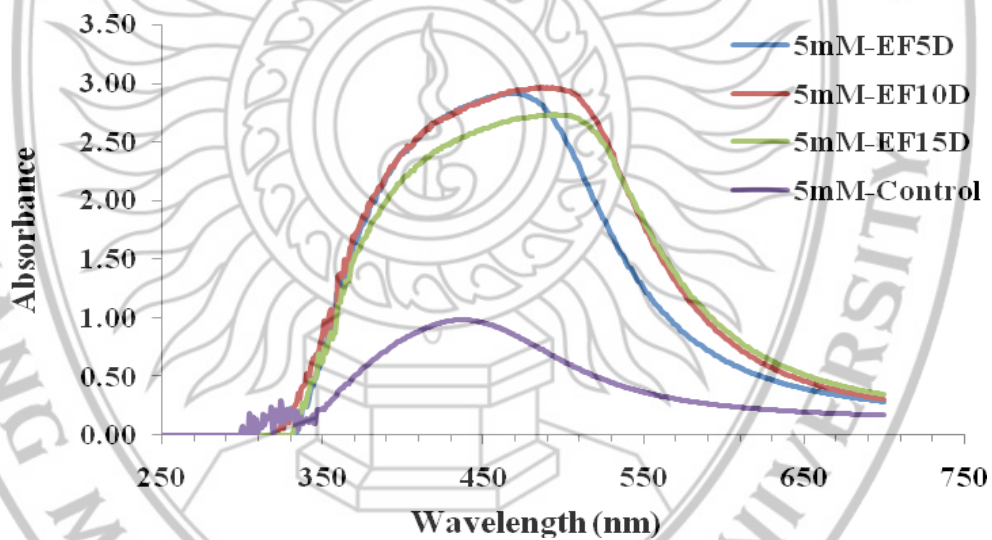
แต่อย่างไรก็ตามผลของความเข้มข้นของสารละลาย  $\text{AgNO}_3$  ต่อขนาดอนุภาคซิลเวอร์นาโนยังไม่ทราบเป็นที่แน่ชัด แต่คาดว่าน่าจะเป็นผลมาจากรูปแบบการเกิดอนุภาคที่มีแผ่ขยายบริเวณพื้นผิวทำให้ไม่เกิดการจับกลุ่มของอนุภาค จึงส่งผลต่อขนาดของอนุภาคซิลเวอร์นาโน

#### 4.5 การดูดกลืนแสง UV-visible spectrum

การศึกษาสเปกตรัมการดูดกลืนแสงยูวี (UV-visible spectrum) ของสารละลายอนุภาคซิลเวอร์นาโนจากสารละลาย extracellular fluid (EF) จากเซลล์แอกติโนมัยซีทไอโซเลท DSK-3 ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 5 วัน 10 วัน และ 15 วัน พบว่า สารละลายอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่เติมสารละลาย 1mM AgNO<sub>3</sub> สามารถดูดกลืนความยาวคลื่นสูงสุดในช่วง 430-450 nm (ภาพที่ 4.12) ส่วนตัวอย่างของสารละลายอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่เติมสารละลาย 5mM AgNO<sub>3</sub> ของน้ำเลี้ยงเซลล์ในแต่ละวัน สามารถดูดกลืนความยาวคลื่นสูงสุดในช่วง 470-480 nm (ภาพที่ 4.13) จะเห็นได้ว่าจากการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย AgNO<sub>3</sub> จากความเข้มข้น 1mM เป็น 5mM ทำให้สเปกตรัมการดูดกลืนแสงยูวีค่อยๆเลื่อนไปทางด้านขวามือ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Amal et al. (2017) ที่มีการรายงานสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายของอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ด้วย extracellular synthesis มีค่าดูดกลืนความยาวคลื่นในช่วง 400 ถึง 500 nm โดยอนุภาคซิลเวอร์นาโน จากเชื้อ *Penicillium aurantiogresium*, *Penicillium roqueforti*, *Aspergillus niger*, *Verticillium chlamydosporium* var. *chlamydosporium*, *Trichoderma viride* และ *Trichoderma longibranchiatum* สามารถดูดกลืนแสงได้ความยาวคลื่นสูงสุดที่ 430 nm ในขณะที่อนุภาคนาโนจากเชื้อ *Thermomonospora* sp. สามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่นสูงสุด 520 nm ซึ่งเป็นผลมาจากชนิดของเอนไซม์ที่เป็นโปรตีนจากเซลล์สามารถจับกับอนุภาคนาโนโดยปฏิกิริยารีดักชัน (Sastry et al., 2003)



ภาพที่ 4.12 UV-visible absorption spectrum ของอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่รีดิวซ์ด้วยสารละลาย extracellular fluid (EF) ในวันที่ 5 10 และ 15 ของแอสติโนมายซีทไอโซเลท DSK-3 ที่ทำปฏิกิริยากับสารละลาย 1mM AgNO<sub>3</sub>



ภาพที่ 4.13 UV-visible absorption spectrum ของอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่ได้จากการรีดิวซ์ด้วยสารละลาย extracellular fluid (EF) ในวันที่ 5 10 และ 15 ของแอสติโนมายซีทไอโซเลท DSK-3 ที่ทำปฏิกิริยากับสารละลาย 5mM AgNO<sub>3</sub>



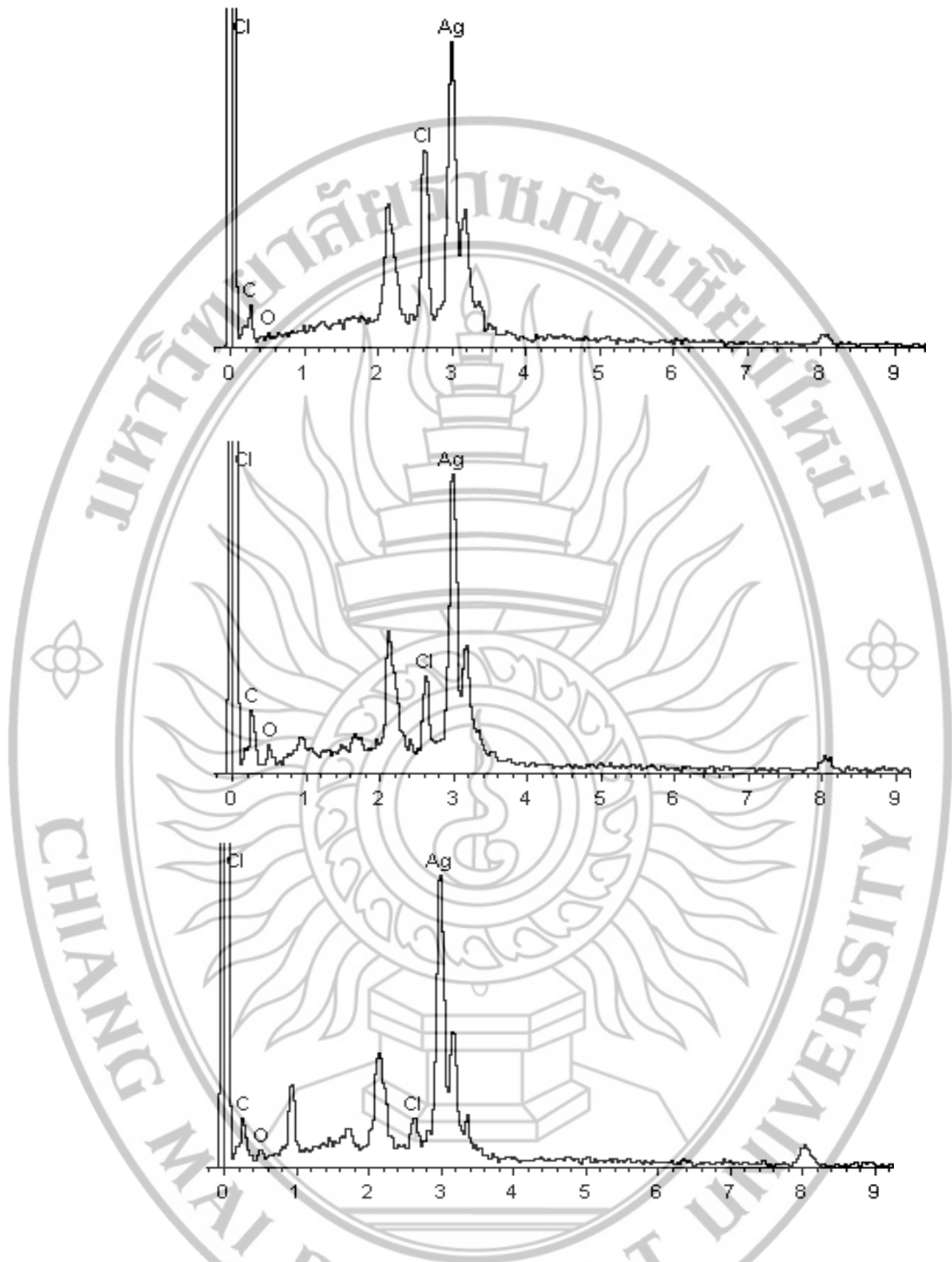
#### 4.6 ผลการวิเคราะห์ธาตุของอนุภาคซิลเวอร์นาโน

จากการวิเคราะห์ธาตุบนพื้นผิวของอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์จากสารละลาย extracellular fluid (EF) จากเซลล์แอกติโนมัยซีทไอโซเลท DSK-3 ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 5 วัน 10 วัน และ 15 วัน ด้วยเทคนิคเอกซเรย์สเปกโตรสโคปแบบกระจายพลังงาน (energy-dispersive X-ray, EDX) เพื่อเป็นการยืนยันผลึกของอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด พบว่า บนพื้นผิวของผลึกอนุภาคซิลเวอร์นาโนทุกตัวอย่างมีธาตุเงิน (silver, Ag) ที่ตำแหน่งประมาณ 3 keV โดยแสดงข้อมูลปริมาณที่เป็นองค์ประกอบในตารางที่ 4.5 ซึ่งจากสเปกตรัมของธาตุ Ag ที่ปรากฏบนพื้นผิวของอนุภาคซิลเวอร์นาโนยืนยันว่าอนุภาคนาโนมีส่วนของ Ag อยู่ดังแสดงในภาพที่ 4.14-4.15

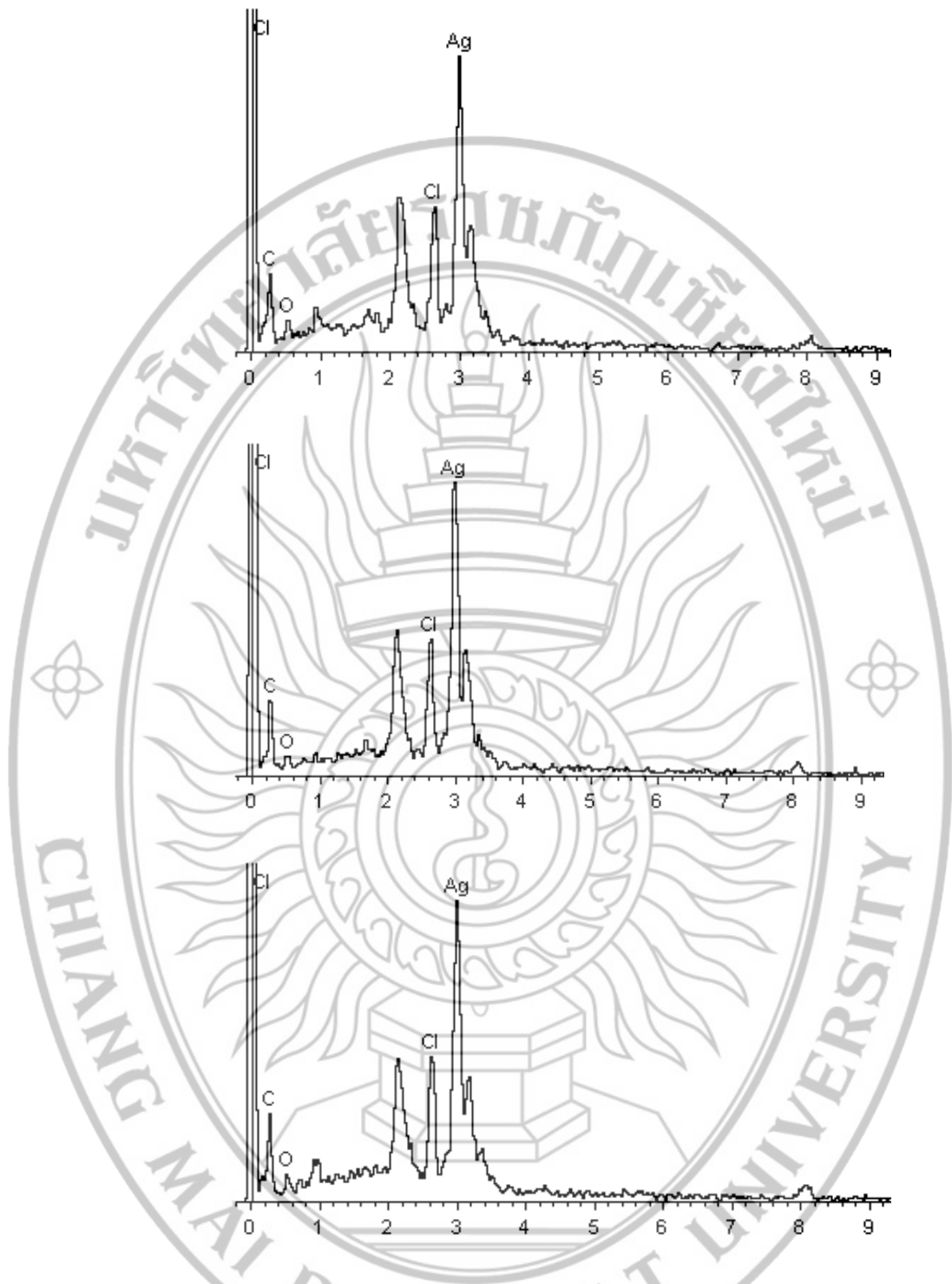
ตารางที่ 4.5 ปริมาณธาตุเงินที่เป็นองค์ประกอบของอนุภาคซิลเวอร์นาโน

อนุภาคซิลเวอร์นาโน	Weight of elements (%)			
	Ag	Cl	O	C
1 mM + CF5	70.56	15.09	2.69	11.66
1 mM + CF10	74.87	6.72	6.59	11.82
1 mM + CF15	85.54	2.51	5.62	6.33
5 mM + CF5	63.49	9.67	9.50	17.34
5 mM + CF10	64.60	9.87	7.42	18.10
5 mM + CF15	62.52	10.19	8.46	18.83

จากองค์ประกอบของธาตุต่างๆที่พบพื้นผิวผลึกของอนุภาคซิลเวอร์นาโนทุกตัวอย่างจะแสดงปริมาณของธาตุ Ag สูงที่สุด รองลงมาได้แก่ ธาตุ C, Cl และ O ซึ่งจากสเปกตรัมของ EDX ที่แสดงพีคสเปกตรัมของธาตุ Ag บนผลึกของอนุภาคนาโนจากแอกติโนมัยซีทไอโซเลท DSK-3 สอดคล้องกับการศึกษาของ Bhosale et al. (2015) จะพบพีคของธาตุ Ag บนอนุภาคซิลเวอร์นาโนทางชีวภาพที่สังเคราะห์ที่ตำแหน่ง 3 keV เช่นกัน ซึ่งเป็นตำแหน่งที่ธาตุดังกล่าวมีการดูดกลืน metallic silver nanocrystalline เนื่องจากปรากฏการณ์ทางด้าน surface plasmon resonance ซึ่งเป็นยืนยันว่าผลึกของอนุภาคซิลเวอร์นาโนดังกล่าว นอกจากนี้ยังมีธาตุอื่นๆ เช่น ธาตุ C N และ O ที่ปรากฏในสเปกตรัม EDX อาจจะมาจากรีดิน หรือ เซลล์ ที่อยู่ตำแหน่งใกล้เคียงหรือจับกับอนุภาคซิลเวอร์นาโน ในขณะที่ธาตุอื่นๆที่ปรากฏในสเปกตรัม EDX อาทิ Cl, Na, P และ Ca มาจาก X-ray emission จากสับสเตรทที่เป็นแก้วที่ใช้ในการศึกษา EDX (Golinska et al., 2014).



ภาพที่ 4.14 สเปกตรัมของธาตุที่ปรากฏบนพื้นผิวของอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ด้วยสารละลายเกลือโลหะ 1mM AgNO<sub>3</sub> กับสารละลาย extracellular fluid (EF) จากเซลล์แอกติโนมัยซีทไอโซเลท DSK-3 ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 5 วัน 10 วัน และ 15 วัน ด้วยเทคนิค EDX



ภาพที่ 4.15 สเปกตรัมของธาตุที่ปรากฏบนพื้นผิวของอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ด้วยสารละลายเกลือโลหะ 5mM AgNO<sub>3</sub> กับสารละลาย extracellular fluid (EF) จากเซลล์แอดิโนมายี ซีทไอโซเลท DSK-3 ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 5 วัน 10 วัน และ 15 วัน ด้วยเทคนิค EDX