



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การตรวจวัดปริมาณแกมมาอะมิโนบิวไทริกแอซิด โดยอาศัยซีควเอนเชียลอินเจคชัน
ร่วมกับการใช้อนุภาคนาโนซิลเวอร์เป็นตัวติดตาม
Determination of gamma-aminobutyric acid by sequential injection
with silver nanoparticle sensor

นางสาวเสาวภาคย์ วีราทรง

690273503

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจาก เงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2559
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการ การตรวจวัดปริมาณแก๊สมาอะมิโนบิวโทริกแอซิด โดยอาศัยซีควนเซียลอินเจคชันร่วมกับการใช้
อนุภาคนาโนซิลเวอร์เป็นตัวติดตาม

ประจำปีงบประมาณ 2559

จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 50,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี

ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2558 ถึง 30 กันยายน 2559

ชื่อ-สกุล หัวหน้าโครงการ หน่วยงานต้นสังกัด

ผศ. ดร. เสาวภาคย์ อีราทรง

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

สารกาบาเป็นสารสื่อประสาทประเภทยับยั้งที่สำคัญในระบบประสาทส่วนกลาง มีงานวิจัยพบว่าสารกา
บาสามารถลดอาการวิตกกังวล และลดความเสี่ยงของโรคความจำเสื่อมได้ ในปัจจุบันมีผลิตภัณฑ์อาหารหลาย
ชนิดที่เติมสารกาบาลงไปเป็นส่วนประกอบเพื่อเพิ่มคุณภาพและมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์

ในโครงการพิเศษนี้ได้พัฒนาระบบซีควนเซียลอินเจคชันขึ้นเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณกาบาศดด้วยอนุภาคนา
โนซิลเวอร์ซึ่งถูกล้อมรอบด้วยซิเตท ที่พีเอชประมาณ 3.8 กาบามีประจุเป็นบวก ทำให้สามารถเหนี่ยวนำ
อนุภาคนาโนซิลเวอร์ให้เกิดการรวมตัวกันได้ด้วยแรงทางไฟฟ้า ส่งผลให้ค่าการกระเจิงแสงเปลี่ยนแปลงไป โดย
สามารถตรวจวัดได้ด้วยเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์

วิธีวิเคราะห์นี้เริ่มจากการดูดสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ สารละลายกาบา และอนุภาคนาโนซิลเวอร์เข้า
สู่โวลต์คอลล์ของระบบ SI จากนั้นผลึกสารละลายเข้าสู่เครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ ตั้งค่าความยาวคลื่นที่
ใช้ในการกระตุ้นและการตรวจวัดที่ 300 และ 600 นาโนเมตรตามลำดับ โดยค่าการกระเจิงแสงที่ได้จะแปรผัน
ตามความเข้มข้นของกาบา จากสภาวะที่เหมาะสมกราฟมาตรฐานที่ได้มีช่วงความเป็นเส้นตรงคือ 50-200
มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเท่ากับ 0.9956 ซีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดคือ 19.80 มิลลิกรัม
ต่อลิตร และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ ร้อยละ 0.5966 วิธีวิเคราะห์นี้มีความเป็นอัตโนมัติ มีความ
แม่นยำสูง และมีอัตราในการวิเคราะห์ตัวอย่างที่รวดเร็วคือ 25 ตัวอย่างต่อชั่วโมง

คำสำคัญ : กาบา, การกระเจิงแสง, ซีควนเซียลอินเจคชัน, สเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ อนุภาคนาโนซิลเวอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Research Title: Determination of gamma-aminobutyric acid by sequential injection with silver nanoparticle sensor

Researcher: Asst. Prof. Dr. Saowapak Teerasong

Faculty: Science

Department: Chemistry

King Mongkut 's Institute of Technology Ladkrabang

ABSTRACT

Gamma-aminobutyric acid (GABA) is an important inhibitory neurotransmitter in the central nervous system. Some researcher found that this compound can reduce anxiety symptoms and decrease a risk of Alzheimer's disease. Today many food products have added GABA to their ingredient, in order to improve a quality and value to the product.

In this work, a sequential injection (SI) was developed for quantitative analysis of GABA based on citrate-capped silver nanoparticle (AgNPs) sensor. At pH ~3.8, GABA is positively charged. This compound could thus induce the AgNPs to aggregate via electrostatic interaction. This resulted in the degree of light scattering which can be monitored by a spectrofluorometer.

In the method, acetate buffer, solution of GABA and AgNPs were subsequently introduced into a holding coil of SI. After that the solution zone was transferred to the spectrofluorometer, set with excitation and detection wavelengths at 300 and 600 nm, respectively. As results, the intensity of scattering light was proportional to the concentration of GABA. Under optimal condition, the calibration was linear in range of 50-200 mg/L GABA. The coefficient of determination was 0.9956. The limit of detection was 19.80 mg/L and the relative standard deviation was 0.5966%. The method was automated and rapid with a sample throughput of 25 sample per hour.

Keywords : GABA, Light scattering, Sequential Injection, Spectrofluorometer, Silver nanoparticles

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ในการเอื้อเฟื้อเครื่องมือและสถานที่ในการทำวิจัย การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง จากแหล่งทุนเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2559

เสาวภาคย์ อีราทรง
หัวหน้าโครงการวิจัย



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ.....	IV
สารบัญตาราง.....	VI
สารบัญภาพ.....	VII
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	1
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	1
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 กาบ.....	3
2.2 อนุภาคนาโนซิลเวอร์.....	4
2.3 ซีควนเซียลอินเจคชัน.....	8
2.4 สเปคโตรฟลูออโรมิเตอร์.....	11
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	13
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	16
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์.....	16
3.2 การเตรียมสารเคมี.....	17
3.2 วิธีดำเนินการทดลอง.....	18
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล.....	23
4.1 ผลการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของวิธีวิเคราะห์.....	23
4.2 กราฟมาตรฐานที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสม.....	32
4.3 ประเมินคุณลักษณะเด่นของวิธีวิเคราะห์.....	33
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย.....	34
บทที่ 6 สรุปผลผลิตงานวิจัย.....	35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
เอกสารอ้างอิง.....	36
ภาคผนวก.....	38
ภาคผนวก ก งานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์.....	39
ภาคผนวก ข สรุปค่าใช้จ่ายการดำเนินโครงการวิจัย.....	47
ประวัตินักวิจัย.....	49



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ตารางแสดงปริมาณกาบาในผลิตภัณฑ์อาหารชนิดต่างๆ.....	4
3.1 แสดงปริมาตรของสารละลายสารแอซิเตทบัฟเฟอร์พีเอช 3.80, สารละลายสติกมาตรฐาน กาบาคความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และอนุภาคนาโนซิลเวอร์ เพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน.....	19
4.1 สรุปสมการเชิงเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์การตัดลิ่มใจเมื่อใช้ความยาวของมิกซิงคอยล์ในระบบ SI สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกาบา.....	26
4.2 สรุปสมการเชิงเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์การตัดลิ่มใจเมื่อใช้อัตราการไหลที่แตกต่างกัน.....	27
4.3 สรุปการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณกาบา ด้วยอนุภาคนาโนซิลเวอร์ภายใต้ระบบซีควนเซียลอินเจกชัน.....	27



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

รูปที่	หน้า
2.1 สูตรโครงสร้างทางเคมีของกาบา.....	3
2.2 การสั่นของพลาสมอน (Plasmon oscillation) ในอนุภาคทรงกลม.....	5
2.3 ขนาดต่างๆของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่สังเคราะห์เมื่อส่องผ่าน TEM.....	7
2.4 แสดงระบบ SI อย่างง่าย และการแพร่ของสารในระบบ.....	9
2.5 ก. แสดงรูปลักษณะของ Syringe pump และ ข. แสดงรูปลักษณะของ Multi-selection valve.....	10
2.6 ก. โพลดิ้งคอยล์ และ ข. มิกซิงคอยล์.....	10
2.7 แสดงโพลทรูเชลล์ ที่ใช้ในเครื่องฟลูออโรมิเตอร์.....	11
2.8 แสดงตำแหน่งขององค์ประกอบในเครื่อง Spectrofluorometer.....	13
3.1 แสดงระบบระบบซีควนเซียลอินเจกชันอะนาไลซิสที่ได้ออกแบบ เพื่อในวิเคราะห์หาปริมาณ กาบาแบบอัตโนมัติ.....	18
3.2 แสดงลำดับท่อนโซนสารละลายที่ดูดเข้ามาในโพลดิ้งคอยล์.....	20
4.1 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาการรวมตัวของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ซึ่งถูกเหนี่ยวนำด้วยกาบา ที่ควบคุมพีเอชให้มีประจุเป็นบวก.....	23
4.2 แสดงผลของลำดับในท่อนโซนโพลดิ้งคอยล์ที่ส่งผลต่อค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคนาโนซิลเวอร์.....	24
4.3 แสดงผลของลำดับการทำปฏิกิริยาแบบ sandwich และ non-sandwich ในท่อนโซนโพลดิ้งคอยล์ ที่ส่งผลต่อค่าการกระเจิงแสงของอนุภาคนาโนซิลเวอร์.....	25
4.4 แสดงผลของความยาวของมิกซิงคอยล์ซึ่งส่งผลต่อค่าการกระเจิงของแสงของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ เมื่อมีกาบาความเข้มข้นต่างๆ.....	26
4.5 แสดงค่าการกระเจิงแสงของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารละลายมาตรฐานกาบา ที่เตรียมในสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ พีเอช 3.8 ที่ไว้ที่เวลา 2, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง.....	27
4.6 แสดงค่าการกระเจิงแสงของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารละลายมาตรฐานกาบาใน สารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ pH 3.8 ที่ความเข้มข้น 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 และ 1 ไมลาร์.....	28
4.7 แสดงค่าการกระเจิงแสงของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ความเข้มข้น 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 มิลลิโมลาร์ ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารละลายมาตรฐานกาบาในสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ pH 3.8 ความเข้มข้น 0.5 ไมลาร์.....	29
4.8 แสดงค่าการกระเจิงแสงของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ความเข้มข้น 0.4 มิลลิโมลาร์ที่ปริมาตร 50, 75, 100 และ 125 ไมโครลิตร ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารละลายมาตรฐานกาบาในสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ พีเอช 3.8 ความเข้มข้น 0.5 ไมลาร์.....	30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 4.9 แสดงค่าการกระเจิงแสงของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานกาบา โดยใช้แสง
 กระตุ้นที่ความยาวคลื่น 225, 250, 275, 300, 325 และ 350 นาโนเมตร.....30
- 4.10 แสดงสัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานกาบาความเข้มข้น 50-200 มิลลิกรัมต่อลิตร..32
- 4.11 แสดงกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกาบาในช่วงความเข้มข้น 50-200 มิลลิกรัมต่อลิตร.....32



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

สารกาบา (γ -Aminobutyric Acid , GABA) เป็นสารสื่อสัญญาณประสาทที่สำคัญในระบบประสาทส่วนกลาง ช่วยลดภาวะเสี่ยงในโรคความจำเสื่อม อาการวิตกกังวล หรือโรคเครียด ป้องกันความดันโลหิตสูง และยับยั้งการแพร่ของเซลล์มะเร็ง [1] โดยปกติสารกาบาชนิดนี้มีอยู่ในระบบประสาทส่วนกลางของมนุษย์อยู่แล้ว ซึ่งสารกาบาสามารถเกิดขึ้นได้จากกระบวนการทางธรรมชาติที่เปลี่ยนสารกลูตาเมต (Glutamate) ในสมองให้กลายเป็นสารกาบา และจากหลักฐานทางงานวิจัย พบว่าการบริโภคปริมาณกาบาแค่เพียงประมาณ 20-30 มิลลิกรัมต่อวันก็เพียงพอต่อการผ่อนคลายความเครียด ดังนั้นในชีวิตประจำวันจึงสามารถหารับประทานได้จากแหล่งอาหารตามธรรมชาติ เช่น ใบชาแห้ง เมล่อน มะเขือเทศ กิมจิ ข้าวกล้องงอก หรือผลิตภัณฑ์อาหารเสริมและเครื่องดื่มเสริมกาบา เป็นต้น [2]

ปัจจุบันผลิตภัณฑ์อาหารเสริมหลายชนิดที่มีส่วนผสมของกาบา ได้มีการระบุปริมาณกาบาในผลิตภัณฑ์ เพื่อเป็นทางเลือกให้ผู้บริโภคได้เลือกผลิตภัณฑ์นั้นๆ ดังนั้นในกระบวนการผลิต จึงต้องมีขั้นตอนการตรวจสอบและควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ซึ่งเทคนิคการตรวจวัดเพื่อระบุปริมาณ กาบาในผลิตภัณฑ์ต่างๆ ในปัจจุบันมีหลากหลายวิธีเช่น เทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟี [3] และเทคนิคซีควนเชียลอินเจกชันอะนาลิซิส (Sequential Injection, SI) [4] โดยทั้งสองเทคนิคมีข้อดีคือ มีความแม่นยำสูง แต่ใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน และมีการทำอนุพันธ์ ทำให้เกิดข้อจำกัดในการวิเคราะห์

ในงานวิจัยนี้ทำการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณกาบา โดยอาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่างกาบากับอนุภาคนาโนซิลเวอร์ ภายใต้ระบบซีควนเชียลอินเจกชัน (Sequential Injection, SI) จากนั้นติดตามการเปลี่ยนแปลงการกระเจิงแสงของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่แปรผันตรงกับความเข้มข้นของกาบาที่เติมลงไป โดยใช้เครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ ข้อดีของวิธีการตรวจวัดนี้คือ ระบบมีความเป็นอัตโนมัติสามารถตรวจวิเคราะห์ได้อย่างต่อเนื่อง ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงคาดว่า จะได้วิธีตรวจวัดกาบาที่มีความรวดเร็วและถูกต้องแม่นยำ

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อพัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณกาบาโดยใช้ระบบ SI และมีอนุภาคนาโนซิลเวอร์เป็นตัวติดตาม

1.2.2 เพื่อนำวิธีที่พัฒนาขึ้นไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณกาบาในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมกาบา

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1.3.1 ศึกษากลไกการเกิดปฏิกิริยาระหว่างกาบากับอนุภาคนาโนซิลเวอร์

1.3.2 พัฒนาระบบ SI เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณกาบา

1.3.3 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณกาบา ภายใต้ระบบ SI

1.3.4 ประยุกต์ระบบที่พัฒนาขึ้นในการวิเคราะห์หาปริมาณกาบาในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมกาบา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบกลไกการเกิดปฏิกิริยาระหว่างกาบากับอนุภาคนาโนซิลเวอร์

1.4.2 ได้ระบบ SI เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หากาบ

1.4.3 ระบบที่พัฒนาขึ้นสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณกาบในผลิตภัณฑ์อาหาร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

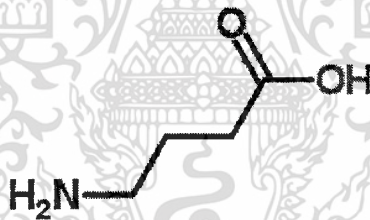
2.1 กาบ

2.1.1 ข้อมูลทั่วไป

กาบ (Gamma aminobutyric acid, γ -Aminobutyric acid, 4-Aminobutyric acid, GABA) คือกรดอะมิโนชนิดหนึ่งที่พบได้ในระบบประสาทส่วนกลางของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เป็นสารสื่อประสาทประเภทยับยั้ง (Inhibitory neurotransmitter) ทำหน้าที่รักษาสมดุลในสมอง ทำให้เกิดการผ่อนคลาย และยังกระตุ้นต่อมไร้ท่อ ให้เกิดการผลิตฮอร์โมนที่ช่วยในการเจริญเติบโตหรือ ฮิวแมนโกรทฮอร์โมน (Human growth hormone, HGH)

2.1.2 คุณลักษณะ [5]

กาบเป็น ผงสีขาวละเอียด ไม่มีกลิ่น สูตรโมเลกุล $C_4H_9NO_2$ มวลโมเลกุล เท่ากับ 103.120 กรัมต่อโมล ความหนาแน่น เท่ากับ 1.1 ± 0.1 กรัมต่อมิลลิกรัม จุดเดือด จุดหลอมเหลว 247.9 และ 203.7 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เนื่องจากกาบมีหมู่ฟังก์ชัน 2 หมู่ คือ หมู่คาร์บอกซิลิก และ หมู่อะมิโน จึงมีค่าการแตกตัวของกรด (pKa) 2 ค่า โดยค่าการแตกตัวของกรดของหมู่คาร์บอกซิลิก เท่ากับ 4.23 และหมู่อะมิโน เท่ากับ 10.43



รูปที่ 2.1 สูตรโครงสร้างทางเคมีของกาบ

2.1.3 แหล่งที่พบ [2]

กาบสามารถพบได้ทั่วไปในอาหารตามธรรมชาติหลายประเภท ซึ่งอาหารแต่ละชนิดจะพบกาบได้ในปริมาณที่ต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 2.1 เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ตามธรรมชาติจึงทำให้มีปริมาณกาบไม่แน่นอน และอาจไม่เพียงพอต่อความต้องการที่จะทำให้เกิดผลตามที่ผู้บริโภคคาดหวัง ดังนั้นจึงมีการเติมกาบลงในผลิตภัณฑ์อาหารชนิดต่างๆ

ตารางที่ 2.1 ตารางแสดงปริมาณกาบาในผลิตภัณฑ์อาหารชนิดต่างๆ [2]

ผลิตภัณฑ์อาหาร	ปริมาณกาบา (มิลลิกรัม/100 กรัม)
ใบชาแห้ง	100-200
แตงเมล่อน	74.5
มะเขือเทศ	62.6
กิมจิ	59.4
ซีอิ๊วโกแลต	14.5
ข้าวกล้องงอก	10.0
ฟักทอง	9.7
เต้าหู้	6.4

2.1.4 ประโยชน์ [1, 2]

กาบาทำหน้าที่รักษาสมดุลในสมอง โดยการยับยั้งการกระตุ้นสารสื่อประสาทที่ทำให้จิตใจเกิดการกระวนกระวาย จึงได้มีการนำมาเป็นยากล่อมประสาทเพื่อลดความเครียด ความวิตกกังวลและอาการนอนไม่หลับ ทั้งยังช่วยลดความดันโลหิต ป้องกันโรคอ้วน โดยการลดปริมาณไตรกลีเซอไรด์ในตับและกระแสเลือด เพิ่มเมแทบอลิซึมของ เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol) และ แอซิทัลดีไฮด์ (Acetaldehyde) มีคุณสมบัติเป็นสารระงับกลืน ช่วยทำให้การทำงานของตับและไตดีขึ้น ช่วยขับปัสสาวะ และยังรักษาโรคลมชัก และอาการอัลไซเมอร์ได้อีกด้วย ปริมาณกาบาที่ได้รับเพื่อให้มีประสิทธิภาพ (Effective dose) เพื่อผ่อนคลายความเครียดอยู่ที่ประมาณ 20-30 มิลลิกรัม แต่อย่างไรก็ตามในปัจจุบันยังไม่มีการกำหนดร้อยละของปริมาณกาบาที่ร่างกายควรได้รับในแต่ละวัน (% Daily Value) จึงทำให้มีการเติมกาบาลงในอาหารเสริมมากถึงถึง 500 มิลลิกรัม

2.2 อนุภาคนาโนซิลเวอร์ (Silver nanoparticles)

2.2.1 นาโนศาสตร์ (Nanoscience)

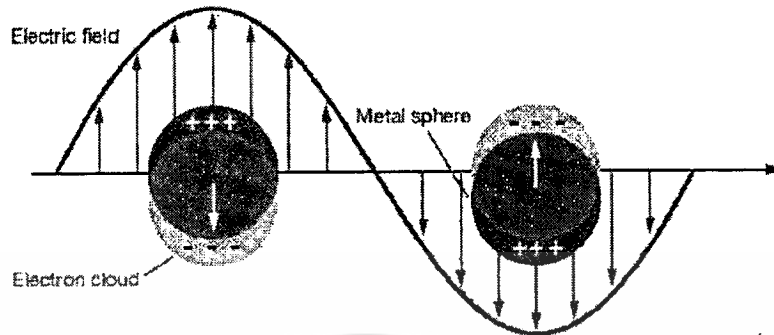
นาโนศาสตร์เป็นการศึกษาเกี่ยวกับอนุภาคของอะตอมหรือโมเลกุลที่มีขนาดอยู่ในระดับนาโนเมตร (1 นาโนเมตรเท่ากับ 1 ในพันล้านเมตร หรือ 10^{-9} เมตร) เมื่ออนุภาคมีขนาดเล็กมากในระดับนาโนแล้ว จะทำให้คุณสมบัติต่างๆของอนุภาคเปลี่ยนแปลงไป

2.2.2 สมบัติทางแสง [6]

สมบัติทางแสงเป็นสมบัติเฉพาะตัวของโลหะและโลหะออกไซด์ สมบัติทางแสงของอนุภาคนาโนซิลเวอร์สามารถอธิบายได้ด้วยปรากฏการณ์ เซอร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์ (Surface Plasmon Resonance, SPR) ซึ่งเป็นคลื่นความหนาแน่นของประจุที่เกิดจากการสั่นของอิเล็กตรอนอิสระ ที่มีลักษณะการสั่นพร้อมเพรียงกัน เป็นปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นบริเวณผิวรอยต่อของโลหะกับสารไดอิเล็กทริก เช่นระหว่างอนุภาคเงินกับอากาศหรือสารละลาย โดยที่ ขนาด ยอดคลื่น และความกว้าง ของสเปกตรัมพลาสมอนเรโซแนนซ์ของอนุภาคต่างๆ จะขึ้นกับ ขนาด รูปร่าง ประเภทของวัสดุ และสภาพแวดล้อมรอบๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อนุภาคนั้น อนุภาคนาโนซิลเวอร์จะมีสี่เหลี่ยมเข็ม แทนที่จะเป็นสี่เหลี่ยมยาว อย่างไรก็ตามโลหะส่วนใหญ่จะมี ความถี่เรโซแนนซ์อยู่ในช่วงใกล้รังสียูวีซึ่งอยู่นอกสเปกตรัมของช่วงแสงที่มองเห็น



รูปที่ 2.2 การสั่นของพลาสมอน (Plasmon oscillation) ในอนุภาคทรงกลม
(ที่มา: <http://ulbread2.tistory.com/103>)

รูปที่ 2.2 กระบวนการสั่นของพลาสมอน แสดงให้เห็นการกระจัดของกลุ่มประจุอิเล็กตรอน (Conduction electron charge cloud) สัมพันธ์กับนิวเคลียสเมื่อได้รับแสงหรือคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า ดังนั้น กลุ่มอิเล็กตรอนอิสระจะถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการสั่นพ้อง โดยความถี่ของการสั่นนี้ขึ้นอยู่กับ ความหนาแน่นของอิเล็กตรอน (Electron density) มวลสัมพัทธ์อิเล็กตรอน (Effective electron mass) ขนาด รูปร่างของการกระจายของประจุ (Charge distribution)

2.2.3 อนุภาคนาโนซิลเวอร์ [7]

อนุภาคนาโนซิลเวอร์ เป็นอนุภาคเงินที่สังเคราะห์ขึ้นให้มีขนาดเล็กในระดับนาโนเมตร ทำให้อนุภาคนาโนซิลเวอร์มีสมบัติทางกายภาพและทางเคมีที่แตกต่างไปจากอนุภาคนาโนซิลเวอร์ปกติเช่น อัตราส่วนระหว่างพื้นที่ผิวต่อปริมาตรสูงขึ้น ช่วยให้เกิดปฏิกิริยาเคมีเร็วขึ้น นำไฟฟ้าได้ดีขึ้น และมีสีที่เปลี่ยนไปตามขนาดอนุภาค จากข้อดีที่กล่าวมาทำให้สามารถประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนซิลเวอร์ในการวิเคราะห์ทางเคมีได้หลากหลาย

2.2.4 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ [7]

วิธีการเตรียมอนุภาคโลหะนาโน สามารถเตรียมได้หลายวิธีโดยแบ่งเป็นสองแบบใหญ่ๆ ได้แก่

2.2.4.1 แบบบนลงล่าง (Top-Down) เป็นการสร้างจากระดับบนลงล่าง หรือจากขนาดใหญ่ให้เป็นขนาดเล็ก โดยการตัดแบ่งวัตถุนาโนขนาดใหญ่ให้เล็กลงจนถึงระดับนาโนเมตรด้วยแรงภายนอก โดยใช้เทคนิคต่างๆ เช่น LASER ablation หรือ Ion irradiation แต่พบว่าวิธีนี้มีข้อจำกัดคือ ควบคุมขนาดและรูปร่างของอนุภาค ได้ยาก

2.2.4.2 แบบล่างขึ้นบน (Bottom-up) เป็นการ สังเคราะห์โดยเริ่มต้นจากการเรียงอะตอมแต่ละอะตอม ประกอบขึ้นเป็นอนุภาคที่มีขนาดนาโนเมตร ด้วยวิธีต่างๆ ทางเคมี เช่นอาศัยหลักการเกิดปฏิกิริยารีดักชันของสารละลาย และยังแบ่งย่อยได้เป็น 7 วิธี คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. การบด (Grinding) เป็นกระบวนการเตรียมผงละเอียดด้วยการลดขนาดทางกลของอนุภาคขนาดใหญ่ให้มีขนาดเล็กลง เช่น การบดย่อยด้วยลูกบด การบดย่อยแบบลูกกลิ้งแรงอัดสูง การบดย่อยแบบเจต หรือแม้กระทั่งการบดด้วยมือ

2. อาร์กดิสชาร์จ (Arc discharge) เป็นการจ่ายไฟฟ้ากระแสตรงตกคร่อมระหว่างแท่งโลหะสองแท่ง จะทำให้เกิดประกายไฟหรือสถานะพลาสมาขึ้นระหว่างแท่งโลหะนี้ ภายใต้บรรยากาศปกติหรือกระทำในตัวกลางที่เป็นของเหลว ผลลัพธ์คือได้อนุภาคนาโนของโลหะตรงบริเวณกลางๆ ขั้วของแท่งโลหะ ส่วนการควบคุมขนาด อาจทำได้โดยการควบคุมอุณหภูมิและความสม่ำเสมอของพลาสมา

3. ลิโทกราฟี (Lithography) เปรียบเหมือนกับการแกะสลักหรือการวาดแบบบนพื้นผิวของแข็ง ซึ่งเทคโนโลยีลิโทกราฟีเป็นวิธีการหลักที่ถูกนำมาใช้ในวงการอุตสาหกรรมไมโครอิเล็กทรอนิกส์ แต่สำหรับการศึกษาทางด้านวิทยาศาสตร์ระดับนาโนนั้น จำเป็นที่จะต้องพัฒนาวิธีการของเทคโนโลยีลิโทกราฟีนี้ให้สามารถก่อสร้างโครงสร้างในระดับนาโนเมตรได้ เพราะ ลิโทกราฟีในระดับนาโนไม่สามารถใช้แสงที่มองเห็นได้ในการจัดการ (แสงที่มีความยาวคลื่นอยู่ในช่วง 400-900 นาโนเมตรใหญ่เกินกว่าโครงสร้างระดับนาโน) ดังนั้นจึงมีการพัฒนาวิธีการเพื่อให้วิธีการลิโทกราฟีสามารถที่จะผลิตโครงสร้างนาโนได้

4. พัลส์เลเซอร์อะเบลชัน (Pulsed laser ablation) เป็นวิธีการที่ให้คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า คือแสงเลเซอร์กับโลหะที่ต้องการเตรียมเป็นอนุภาคนาโน จากนั้นบริเวณผิวของโลหะจะมีการดูดกลืนพลังงานที่ตกกระทบจนเกิดความร้อนสูงแล้วมีการเปลี่ยนสถานะเป็นไอของโลหะจากนั้นเกิดการควบแน่นเป็นอนุภาคนาโนของโลหะ มีรายงานว่า การควบแน่นเป็นอนุภาคสามารถเกิดในตัวกลางที่เป็นของเหลวได้ดี ส่วนการควบคุมขนาดสามารถทำได้โดยการควบคุมด้วยพลังงานของแสงเลเซอร์ ชนิดของตัวกลางที่เป็นของเหลว หรือแม้กระทั่งความเข้มข้นของไอโลหะก็เป็นตัวกำหนดขนาดของอนุภาคได้

5. โฟโตเคมีสทรี (Photochemistry) เป็นการให้แสงที่มีพลังงานพอดิบกับพลังงานพันธะเพื่อให้เกิดการดูดกลืนแสงของสารเคมีตั้งต้น จากนั้นสารตั้งต้นที่มีพลังงานสูงขึ้น จะพยายามจัดการกับพลังงานส่วนเกินนี้ในหลายวิธี ซึ่งหนึ่งในนั้นคือการเกิดปฏิกิริยาเคมี เรียกปฏิกิริยานี้ว่า ปฏิกิริยาโฟโตเคมีคอล (Photochemical reaction) สำหรับการเตรียมอนุภาคนาโนของโลหะ เช่น ทองคำ หรือเงิน โดยปฏิกิริยาโฟโตเคมีคอล จะใช้สารที่ให้อิเล็กตรอนเมื่อถูกกระตุ้นด้วยแสง เช่น โลหะออกไซด์ เมื่อไอออนของโลหะซึ่งมีเลขออกซิเดชันเป็นบวกหรือเป็นสารประกอบโลหะ ได้รับอิเล็กตรอนจากสารที่มีสมบัติตอบสนองต่อแสง หรือ ผู้ให้อิเล็กตรอน (Electron donors) แล้วเปลี่ยนเป็นอะตอมของโลหะที่มีเลขออกซิเดชันเป็นศูนย์ จากนั้นเกิดการควบแน่นเป็นอนุภาคของโลหะ

6. รีดักชันทางเคมี (Chemical reduction) เป็นวิธีการทางเคมีที่เตรียมจากไอออนของโลหะซึ่งมีเลขออกซิเดชันเป็นบวกหรือเป็นสารประกอบโลหะที่สามารถละลายในตัวกลางที่เป็นของเหลวและไม่เกิดการรวมตัวกันเป็นอนุภาค เมื่อไอออนของโลหะได้รับอิเล็กตรอนจากตัวรีดิวซ์จะเปลี่ยนเป็นอะตอมของโลหะที่มีเลขออกซิเดชันเป็นศูนย์ จากนั้นเกิดการควบแน่นเป็นอนุภาคของโลหะ ส่วนการควบคุมขนาดสามารถทำได้โดยการควบคุมด้วยอัตราส่วนโดยโมลระหว่างตัวรีดิวซ์กับสารประกอบโลหะ ชนิดของตัวรีดิวซ์ และชนิดของสเตบิไลเซอร์ (Stabilizer)

7. โซโนเคมีสทรี (Sonochemistry) เป็นวิธีการทางเคมีที่เกิดจากไอออนของโลหะที่มีเลขออกซิเดชันเป็นบวกหรือเป็นสารประกอบโลหะ ได้รับอิเล็กตรอนจาก แรดิคัล (Radicals) มีงานวิจัยได้อธิบายกรณีที่น่าได้รับคลื่นอัลตราโซนิก จะทำให้เกิดเป็น H และ OH radicals และให้อิเล็กตรอนแก่

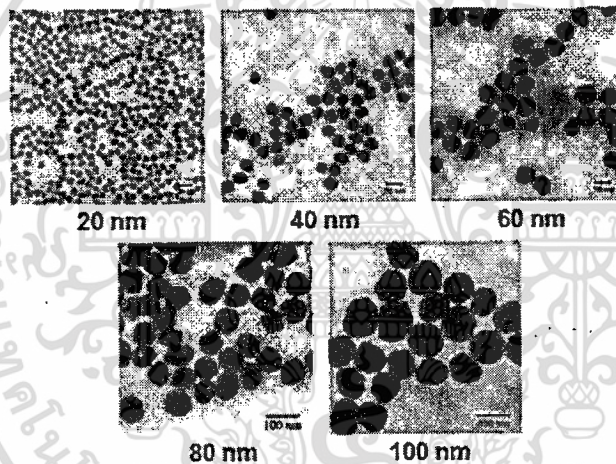
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอออนของโลหะแล้วเปลี่ยนเป็นอะตอมของโลหะที่มีเลขออกซิเดชันเป็นศูนย์ จากนั้นเกิดการควบแน่นเป็นอนุภาคของโลหะในตัวกลางที่เป็นของเหลว

ในงานวิจัยนี้สังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ด้วยวิธีรีดักชันทางเคมี (Chemical reduction) โดยการเตรียมสารละลายซิลเวอร์ไนเตรด ใช้โซเดียมซิเตรดเป็นสแตบิไลเซอร์ จากนั้นจึงใช้โซเดียมโบโรไฮไดรด์เป็นตัวรีดิวซ์

2.2.5 การตรวจสอบคุณลักษณะของอนุภาคนาโนซิลเวอร์

เนื่องจากอนุภาคที่มีขนาดนาโนเมตรไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ดังนั้นจึงต้องอาศัยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Electron microscopes) ที่มีกำลังขยายสูง เช่น กล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน (Transmission electron microscope, TEM) ดังรูปที่ 2.4 นอกจากนี้ยังสามารถใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) เมื่ออนุภาคนาโนมีขนาดหนึ่งๆจะดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นค่าหนึ่ง หากอนุภาคนาโนมีขนาดเปลี่ยนไป ผลจากเซอร์เฟสพลาสมอนเรโซแนนซ์จะทำให้สีของสารละลายเปลี่ยนแล้วทำให้ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่เปลี่ยนไปด้วย



รูปที่ 2.3 ขนาดต่างๆของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่สังเคราะห์เมื่อส่องผ่าน TEM
(ที่มา: <http://nanocomposix.com/pages/nanotoxicology-particle-selection>)

2.2.6 การประยุกต์ใช้นาโนซิลเวอร์สำหรับการวิเคราะห์ทางเคมี

การที่อนุภาคนาโนซิลเวอร์มีขนาดเล็กระดับนาโนเมตร ทำให้มีพื้นที่ผิวต่อปริมาตรสูง เปลี่ยนสีตามขนาดของอนุภาค (จากปรากฏการณ์เซอร์เฟสพลาสมอนเรโซแนนซ์) ช่วยเร่งปฏิกิริยาเคมีให้เกิดเร็วขึ้น จากข้อดีดังกล่าวทำให้ในปัจจุบันได้มีการนำอนุภาคนาโนซิลเวอร์มาประยุกต์ใช้สำหรับงานด้านเคมีวิเคราะห์ เพื่อวิเคราะห์หาชนิด และปริมาณของสาร ทั้งด้านสิ่งแวดล้อม อาหาร และการแพทย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.6.1 ด้านสิ่งแวดล้อม [8]

J. Duan และคณะได้ทำการตรวจวัดปรอทที่ใช้การต้านการรวมตัวของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย 6-thioguanine เมื่ออนุภาคนาโนซิลเวอร์เกิดการรวมตัวขึ้นสารละลายจะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีน้ำตาล หากในตัวอย่างนั้นมีปรอทอยู่ ปรอทจะไปทำการต้านการรวมตัวกันของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ ทำให้สารละลายเปลี่ยนจากสีน้ำตาลเป็นสีเหลือง ในงานวิจัยนี้สามารถตรวจวัดปริมาณปรอทได้ตั้งแต่ 0-333 นาโนโมลาร์ ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดอยู่ที่ 4 นาโนโมลาร์

2.2.6.2 ด้านอาหาร [9]

H. Ping และคณะได้พัฒนาวิธีตรวจวัดเมลามีนจากน้ำนมดิบ เริ่มจากการกำจัดไขมันและโปรตีนโดยการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง ก่อนการรวมตัวกับอนุภาคนาโนซิลเวอร์แล้วสีของสารละลายจะเปลี่ยนไปจากเดิมจากสีเหลืองเป็นสีแดงแสดงว่าอนุภาคมีขนาดใหญ่ขึ้น และจะติดตามการเปลี่ยนแปลงสีด้วยยูวีสเปกโตรมิเตอร์ ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) คือ 2.32 ไมโครโมลาร์ และช่วงความเป็นเส้นตรงเท่ากับ 4.0-170.0 ไมโครโมลาร์

2.2.6.3 ด้านการแพทย์ [10]

J. Ling และคณะ ได้ทำการตรวจวัดเบอร์เบอร์ลิน ไฮโดรคอลลอยด์ โดยอาศัยการเปลี่ยนแปลงสีที่เกิดจากการรวมตัวกันของอนุภาคนาโนซิลเวอร์โดยมีเบอร์เบอร์ลินเป็นตัวเหนี่ยวนำ ในงานวิจัยนี้ได้ทำการสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่มีซีเตรตเป็นสเตบิลิเซอร์จึงทำให้สภาพผิวอนุภาคเป็นลบ ส่วนเบอร์เบอร์ลินจะมีสภาพเป็นบวกทำให้สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการรวมตัวกันของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ได้ เมื่อเกิดการรวมตัวกันจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีจากสีเหลืองไปเป็นสีเขียวถึงสีฟ้าซึ่งจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเบอร์เบอร์ลิน จากนั้นจึงนำไปตรวจวัดการกระเจิงของแสง ที่ความยาวคลื่น 396 นาโนเมตร พบว่าสามารถตรวจวัดได้ในช่วง 0.05-0.4 ไมโครโมลาร์ ซึ่งวิธีดังกล่าวสามารถทำได้ง่ายและใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อย จึงทำให้สามารถทำการวิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็ว

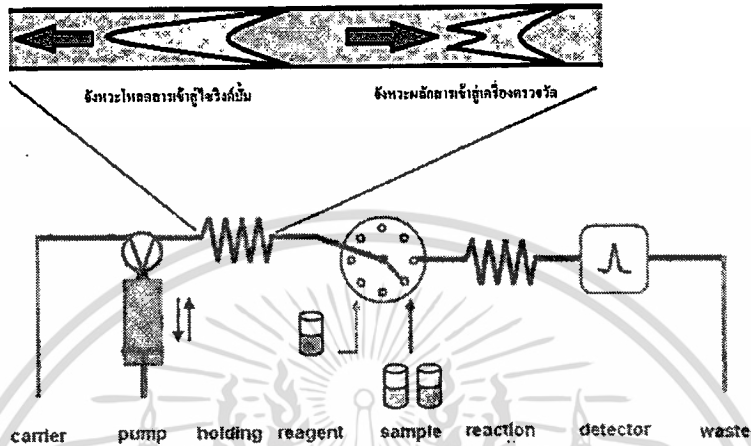
2.3 ซีควนเชียลอินเจกชัน (Sequential Injection, SI)

2.3.1 ข้อมูลทั่วไป [11]

เทคนิคซีควนเชียลอินเจกชันเป็นเทคนิคเพื่อใช้ส่งถ่ายตัวอย่างและเตรียมตัวอย่างขั้นต้นก่อนการวิเคราะห์แบบออนไลน์ เป็นเทคนิคที่เกี่ยวข้องกับกระแสการไหล (Flow-based techniques) เทคนิคซีควนเชียลอินเจกชันจะเป็นการไหลของกระแสในสองทิศทางที่ไม่ต่อเนื่องกัน (Bi-direction discontinuous flow) การใช้เทคนิคซีควนเชียลอินเจกชัน ช่วยให้การปฏิบัติงานง่ายขึ้น เพราะทำงานเป็นระบบอัตโนมัติ ควบคุมด้วยคอมพิวเตอร์ จึงเหมาะสำหรับการส่งถ่ายตัวอย่างที่ต้องทำหลายขั้นตอน ข้อดีของวิธีซีควนเชียลอินเจกชัน คือมีความแม่นยำ เครื่องมีขนาดเล็ก ทำงานได้สะดวก รวดเร็วและลดค่าใช้จ่าย ประหยัดการใช้สารเคมี ไม่ต้องใช้แรงงานในการเตรียมตัวอย่าง เหมาะสมกับการใช้แยกสาร และการทำให้สารละลายมีความเข้มข้นสูงขึ้น อีกทั้งยังสามารถกำหนดการทำงานของตัวอย่างได้หลากหลาย ดังนั้นจึงได้รับความนิยมในการประยุกต์ใช้กับงานวิเคราะห์ด้านต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นด้าน การแพทย์ เกษตรกรรม อุตสาหกรรม สิ่งแวดล้อม การเกษตร และอื่นๆ ศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2 หลักการ [4, 12]

เทคนิคซีเวนเขียลอินเจคชัน อาศัยหลักการแพร่ของสารในท่อขนาดเล็ก ภายใต้ระบบการไหล (Flow-base system) ระบบ SI อย่างง่ายแสดงดังรูป 2.4

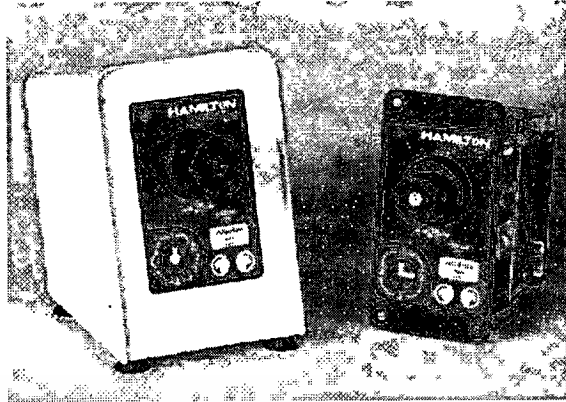
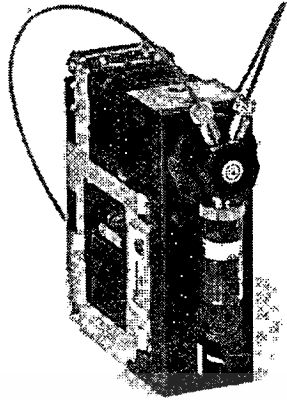


รูปที่ 2.4 แสดงระบบ SI อย่างง่าย และการแพร่ของสารในระบบ
(ที่มา: <http://www.globalfia.com/>)

ในเทคนิคซีเวนเขียลอินเจคชัน มีระบบซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญ 4 ระบบได้แก่

1. ระบบขับเคลื่อน (Propulsion system) ทำให้เกิดการไหลของกระแสตัวพา (Carrier) เข้าสู่ส่วนต่างๆของระบบด้วยอัตราการไหลที่คงที่ (ควบคุมด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์) โดยใช้ไซริงค์ปั๊ม (Syringe pump)
2. ระบบฉีด (Injection system) ใช้มัลติซีเล็คชันวาล์ว (Multi-selection valve) ซึ่งจะมีช่อง (Valve) ตรงกลางทำหน้าที่เชื่อมต่อระหว่างปั๊มกับช่องอื่นๆ อาจมีจำนวนช่องเป็น 4, 6 หรือ 8 ช่อง ช่องเหล่านี้จะต่อกับท่อสำหรับดูดสารละลายต่างๆเข้าสู่ระบบ และผลึกสารเข้าสู่เครื่องตรวจวัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



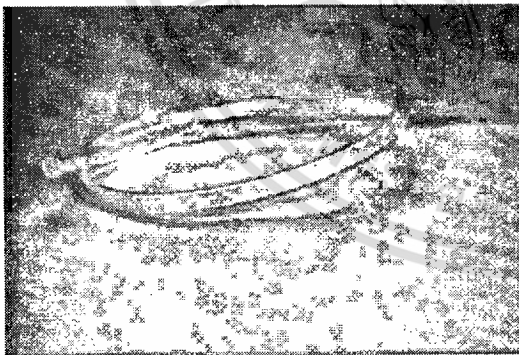
ก.

ข.

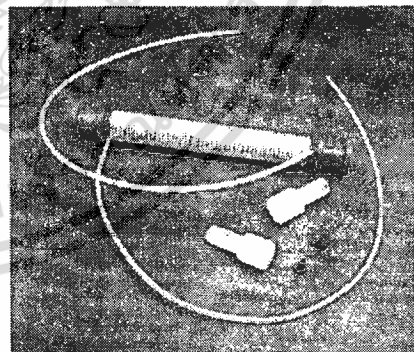
รูปที่ 2.5 ก. แสดงรูปลักษณะของ Syringe pump และ ข. แสดงรูปลักษณะของ Multi-selection valve

(ที่มา: <http://www.directindustry.com/>)

3. ระบบการผสม (Mixing system) ในระบบการผสมสารละลายประกอบด้วย โฮลดิ้งคอยล์ (Holding coil) และ มิกซิงคอยล์ (Mixing coil) ซึ่งสร้างขึ้นจากการนำท่อพลาสติกมาขดเป็นวงกลม โดยหลังจากที่สารละลายตัวอย่างและ รีเอเจนต์ถูกดูดผ่านซีล็คชันวาล์ว เข้ามาและพักไว้ที่ โฮลดิ้งคอยล์ จะทำให้ของเหลวทั้งหมดนี้เกิดการผสมกันในเบื้องต้น (Pre - mixing) โดยการแพร่ของสาร เมื่อท่อนโซนของเหลวทั้งหมดถูกผลักดันผ่านมิกซิงคอยล์ จะเกิดการผสมกันมากขึ้น เพราะโดยปกติ มิกซิงคอยล์ จะมีความยาวมากกว่าโฮลดิ้งคอยล์ และมีการขดงอ กันมากกว่าในโฮลดิ้งคอยล์



ก.



ข.

รูปที่ 2.6 ก. โฮลดิ้งคอยล์ และ ข. มิกซิงคอยล์

(ที่มา: <http://www.psanalytical.com/>, <http://www.indiamart.com/>)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ระบบตรวจวัด (Detection system) ใช้โฟลทรูเซลล์ (Flow through cell) บรรจุลงในเครื่องตรวจวัด โฟลทรูเซลล์ นี้จะต้องมีรูปร่างลักษณะเหมาะสมกับชนิดของเครื่องตรวจวัดที่ใช้ โดยในงานวิจัยนี้ได้ใช้เทคนิคฟลูออโรเมตรีเป็นเทคนิคในการตรวจวัด



รูปที่ 2.7 แสดงโฟลทรูเซลล์ ที่ใช้ในเครื่องฟลูออโรมิเตอร์
(ที่มา: <http://www.analytics-shop.com/>)

2.3.3 ข้อดี

1. มีความเป็นอัตโนมัติมากขึ้น และง่ายต่อการใช้งาน เพราะใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ในการควบคุมทั้งหมด
2. ใช้ปริมาณสารละลายและรีเอเจนต์น้อย เนื่องจากท่อมีขนาดเล็กมาก และสามารถดูดสารในปริมาณน้อยมากได้
3. เกิดการผสมกันได้ดีกว่าในระบบโฟลอินเจกชันอะนาลิซิส เพราะในระบบซีเวนเซียลอินเจกชันมีสองจังหวะ คือจังหวะดูดและจังหวะผลักในขณะที่โฟลอินเจกชันอะนาลิซิสมีเพียงจังหวะผลักเพียงอย่างเดียว ท่อนโซนของสารภายในท่อจึงเกิดการแพร่ดังรูปที่ 2.4

2.4 สเปคโตรฟลูออโรมิเตอร์ (Spectrofluorometer) [13]

2.4.1 องค์ประกอบ

องค์ประกอบที่สำคัญของเครื่องสเปคโตรฟลูออโรมิเตอร์ มีดังนี้

1. หลอดไฟกำเนิดแสง (light source) ใช้หลอดเมอคิวรีความดันสูง (high pressure mercury lamp) ซึ่งสามารถปล่อยแสงที่มีความเข้มมากที่ความยาวคลื่น 253.6, 280.4, 334.1, 435.8, 546, 577 และ 1,014 นาโนเมตร หรือใช้หลอดเมอคิวรีความดันต่ำ (low pressure mercury lamp) ซึ่งสามารถปล่อยแสงที่เข้มมากที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร แต่นิยมใช้หลอดซีนอน (xenon lamp) มากที่สุดเพราะสามารถปล่อยคลื่นแสงออกมาในช่วงกว้างพอเพียงสำหรับการวิเคราะห์สารต่างๆ ในช่วง 190-1,200 นาโนเมตร แต่อย่างไรก็ตามในระยะหลังได้นิยมใช้หลอดเลเซอร์มากขึ้นเนื่องจากลำแสงเลเซอร์มีความยาวคลื่นจำเพาะ มีขนาดเล็กทำให้สามารถประยุกต์ใช้งานเฉพาะอย่าง ตัวอย่างเช่น ใช้อาร์กอนเลเซอร์ในเครื่องโฟลไซโตมิเตอร์ (flow cytometer) ใช้ฮีเลียม-นีออน เลเซอร์ สำหรับเครื่องวัดขนาดของเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อนุภาคเป็นต้น และยังมีกรนำเอาไดโอดเปล่งแสง (light emitting diode) มาเป็นแหล่งกำเนิดแสง เนื่องจากมีขนาดเล็กสามารถนำไปประยุกต์ใช้งานในเครื่องมือขนาดเล็กได้ดี

2. ตัวแยกแสงตกกระทบ (excitation filter) มีทั้งชนิดที่เป็นตัวกรองแสง (light filter) และเกรตติง มีหน้าที่กรองแสง หรือแยกความยาวคลื่นแสงที่ไม่ต้องการให้ตกกระทบสารตัวอย่างออก ในกรณีที่เป็นเกรตติงมักจะไม่มีปัญหาในการใช้งาน เพราะสามารถจำแนกแสงตกกระทบได้ดีและให้แถบแสงที่แคบ แต่ในกรณีที่ใช้ตัวกรองแสงจำเป็นต้องเลือกใช้งานให้ถูกต้องเหมาะสม เพราะให้แถบแสง (band width) ที่ผ่านออกมากว้างประมาณ 15 นาโนเมตร การเลือกใช้งานจึงไม่ควรให้ความกว้างของแถบแสงไปซ้อนทับตัวกรองแสงปล่อยออก (emission filter) เพราะแสงตกกระทบที่ผ่านออกมาจากตัวกรองแสงตกกระทบ อาจจะผ่านตัวกรองแสงปล่อยออก ไปสู่ตัวไวแสงด้วย ทำให้วัดความเข้มของแสงได้สูงกว่าค่าจริง และเพื่อให้การวัดมีความไวมากที่สุด ตัวแยกแสงตกกระทบ ควรให้ลำแสงตกกระทบที่มีความเข้มสูง และควรมีความยาวคลื่นแสงใกล้เคียงกับความยาวคลื่นแสงที่เข้มมากของหลอดไฟกำเนิดแสง

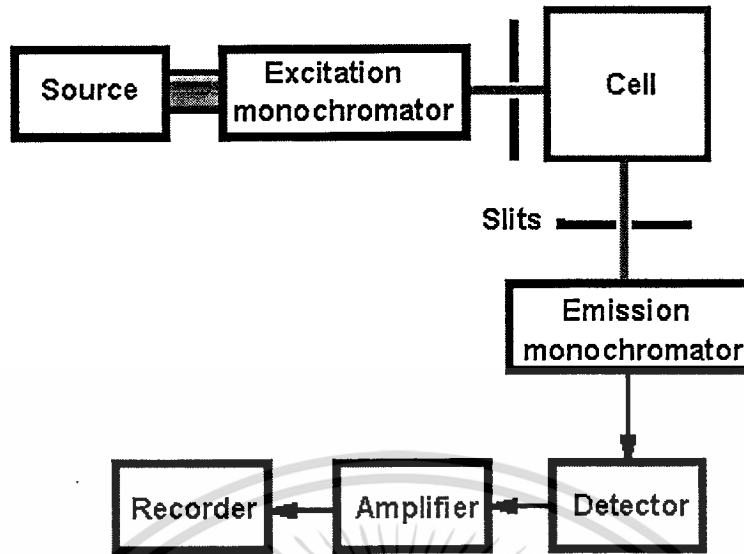
3. คิวเวทท์ ที่ใช้มีทั้งชนิดทรงกระบอก และชนิดสี่เหลี่ยม คิวเวทท์ชนิดสี่เหลี่ยมมีความเหมาะสมในการใช้งานมากกว่า เนื่องจากลดการกระเจิงของแสงตกกระทบ (light scattering) ได้มากกว่า คิวเวทท์ชนิดกลม คิวเวทท์ที่ทำจากควอทซ์สามารถใช้งานได้ในทุกช่วง ความยาวคลื่นแสงตั้งแต่ 190 นาโนเมตรขึ้นไป จนถึง 2,700 นาโนเมตร คิวเวทท์ที่ทำจากแก้วชนิดบอโรซิลิเกต (borosilicate glass) สามารถใช้งานได้เมื่อแสงตกกระทบมีความยาวคลื่นมากกว่า 320 นาโนเมตรขึ้นไป จนถึง 2,500 นาโนเมตร คิวเวทท์พลาสติกสามารถใช้งานได้ในช่วงคลื่น แต่ต้องระวังการมีสารไวแสงที่เจือปนอยู่ ซึ่งอาจทำให้เกิดการรบกวนในบางช่วงคลื่นของการวัดแสง

4. ตัวแยกแสงปล่อยออก (emission filter) มีทั้งชนิดที่เป็นตัวกรองแสง (light filter) และเกรตติง มีหน้าที่ตัดแสงรบกวนต่างๆ เช่น Rayleigh scattering และ Raman scattering ออกปล่อยให้เฉพาะความยาวคลื่นที่ต้องการวัดผ่านไปสู่ตัวไวแสง

5. ตัวกรองแสง (optical filter) ในเครื่องวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์บางแบบใช้ตัวกรองแสงเพื่อทำหน้าที่กรองคลื่นแสงที่ปล่อยออกมาจากตัวแยกแสงปล่อยออก เพื่อเลือกช่วงความยาวคลื่นบางช่วงให้ตกกระทบตัวไวแสง ทั้งนี้เพื่อเพิ่มความจำเพาะในการวัดให้มากขึ้น

6. ตัวไวแสง (light detector) นิยมใช้โฟโตมัลติพลายเออทิวป์ เพราะมีช่วงการวัดกว้าง ตั้งแต่ 300-1,000 นาโนเมตร และสามารถขยายจำนวนโฟตอนได้เป็นจำนวนมาก ทำให้แสงฟลูออเรสเซนซ์ที่เปล่งออกมา (emission light) ซึ่งส่วนมากมีความเข้มน้อยมาก ถูกขยายจำนวนโฟตอนให้มากขึ้น จนวงจรอิเล็กทรอนิกส์สามารถวัดได้อย่างถูกต้อง แต่อย่างไรก็ตามในเครื่องมือขนาดเล็กที่ใช้ในภาคสนามนิยมใช้โฟโตไดโอดที่ทำจากสารกึ่งตัวนำเป็นตัวไวแสง เนื่องจากมีขนาดเล็กใช้กระแสไฟฟ้าน้อย แต่มีข้อจำกัดในการใช้งานบ้าง เพราะสามารถวัดความเข้มของแสงได้ดีเมื่อมีความเข้มของแสงน้อยถึงระดับปานกลาง

7. ภาคแสดงผล สามารถวัดความเข้มของแสงออกมาในหน่วย %T (transmittance) หรือวัดออกมาในหน่วยความเข้มข้นในเครื่องมือที่มีระบบคำนวณผลอัตโนมัติ



รูปที่ 2.8 แสดงตำแหน่งขององค์ประกอบในเครื่อง Spectrofluorometer.
(ที่มา: http://www.il.mahidol.ac.th/e-media/color-light/page4_5.html)

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.5.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับกาบา

พรวิ แทนประมุล [4] ได้ทำการพัฒนาวิธีในการตรวจวัดหาปริมาณกาบา จากผลิตภัณฑ์อาหารเสริมชนิดเม็ดและชนิดแคปซูล โดยอาศัยการทำอนุพันธ์ด้วย 2-hydroxy-1-naphthaldehyde ด้วยระบบ SI และอาศัยความร้อนในการเร่งปฏิกิริยา จากนั้นตรวจวัดผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นด้วย ยูวีสเปกโตรมิเตอร์ พบว่าช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วง 100-2,000 มิลลิกรัมต่อลิตร, ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 0.17 และขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด เท่ากับ 104 มิลลิกรัมต่อลิตร

H.L.Rowley และคณะ [3] ได้ตรวจวัดหาปริมาณกรดอะมิโนชนิดต่างๆ โดยใช้เทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟีแยกโดยอาศัยเฟสเคลื่อนที่ที่มีอัตราส่วนคงที่ (Isocratic elution) ร่วมกับการตรวจวัดทางไฟฟ้า ซึ่งทำโดยนำตัวอย่างมาทำอนุพันธ์กับ o-phthalaldehyde โดยผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจะมีความเสถียรอย่างน้อย 5 ชั่วโมง ซึ่งจะแยกออกมาได้เป็นลำดับดังนี้ คือ serine, glycine, taurine, glutamate, arginine, alanine และ GABA ตามลำดับ ใช้เวลาในการชะสารออกจากคอลัมน์ไปยังเครื่องตรวจวัดเป็นเวลาทั้งหมด 25 นาที

A. Hayat และคณะ [14] ได้ตรวจวัดหาปริมาณกาบาและไลซีนในพันธ์ข้าวปากีสถาน โดยใช้เทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟี โดยพันธ์ข้าวที่นำมาทำการตรวจวัดจะต้องมีการทำอนุพันธ์กับ 2-hydroxynaphthaldehyde จากนั้นทำการแยกโดยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟี จะใช้ท่อคาร์บอน-18 ในระบบ Reverse phase เป็นส่วนอยู่กับที่ และใช้ระบบ gradient elution ของเมทานอลและน้ำเป็นส่วนเคลื่อนที่ โดยมีอัตราการไหลอยู่ที่ 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที เมื่อแยกเสร็จจะตรวจวัดด้วยยูวีสเปกโตรมิเตอร์ พบว่าช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 3.83-34.58 และ 5.16-48.68 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ของกาบาเอและไลซีนตามลำดับ ค่า R ของสารมาตรฐานทั้งสอง เท่ากับ 0.998 และพันธ์ข้าวที่มีปริมาณกาบาและไลซีน ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นสูงที่สุดคือ ข้าวกล้อง ซึ่งมีปริมาณกาบาและไลซีนเท่ากับ 4.1-6.58 และ 15.1-27.6 มิลลิกรัมต่อ100กรัม ตามลำดับ

R. Horanni และคณะ [15] ได้ตรวจวัดกรดอะมิโน 19 ชนิดในชาชนิดต่างๆ โดยอาศัยการทำอนุพันธ์กับ 9-fluorenylmethyloxycarbonyl chloride (FMOCCl) แล้วทำการตรวจวัดโดยใช้เทคนิค HPLC-UV ที่ใช้ท่อคาร์บอน 18 ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นส่วนที่คงที่และในส่วนที่เคลื่อนที่จะอาศัยการทำ gradient ของ 0.1M sodium acetate buffer pH (5.8) ที่ประกอบไปด้วย 0.05% (v/v) triethylamine และ 80% acetonitrile-water เมื่อเกิดการแยกจะทำการตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 262 นาโนเมตร ผลการวิเคราะห์พบว่าได้ค่า $R^2 \geq 0.999$ ค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ (recovery) $>91\%$ ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด(LOD) อยู่ในช่วง 0.057-0.534 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์(LOQ) อยู่ในช่วง 0.235-1.849 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร กรดอะมิโนที่ทำการตรวจวัดได้ค่าสูงที่สุดคือกาบาและแอสพารายีน ที่อยู่ในชาขาว ซึ่งมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 25 มิลลิกรัมต่อกรัม

2.5.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับอนุภาคนาโน

H. Ping และคณะ [9] ได้พัฒนาวิธีตรวจวัดเมลามีนจากน้ำนมดิบ เริ่มจากการกำจัดไขมันและโปรตีนโดยการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง ก่อนการรวมตัวกับอนุภาคนาโนซิลเวอร์แล้วสีของสารละลายจะเปลี่ยนไปจากเดิมจากสีเหลืองเป็นสีแดงแสดงว่าอนุภาคมีขนาดใหญ่ขึ้น และจะติดตามการเปลี่ยนแปลงสีด้วยยูวีสเปกโตรมิเตอร์ ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) คือ 2.32 ไมโครโมลาร์ และช่วงความเป็นเส้นตรงเท่ากับ 4.0-170.0 ไมโครโมลาร์

J.-chun Qu และคณะ [10] ได้ทำการตรวจวัดโพพาฟิโนน โดยอาศัยการตรวจวัดทางสีด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ซึ่งทำโดยอาศัยการเกิดการรวมตัวกันของลิแกนด์ของโพพาฟิโนนกับอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่มีซีเตรตล้อมรอบ เมื่อเกิดการรวมตัวกันจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีจากสีเหลืองไปเป็นสีแดงจนถึงสีม่วงซึ่งความเข้มข้นของโพพาฟิโนนที่สามารถตรวจวัดได้อยู่ในช่วง 1.0×10^{-5} - 3.5×10^{-5} โมลาร์ ได้ค่า R^2 เท่ากับ 0.9986 และได้ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดคือ 2.4×10^{-6} โมลาร์ ซึ่งวิธีนี้ยังสามารถตรวจวัดสีได้ด้วยตาเปล่าโดยไม่ต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาแพงได้อีกด้วย

J. Ling และคณะ [16] ได้ทำการตรวจวัดเบอร์เบอร์รีน ไฮโดรคลอไรด์ โดยอาศัยการเปลี่ยนแปลงสีที่เกิดจากการรวมตัวกันของอนุภาคนาโนซิลเวอร์โดยมีเบอร์เบอร์รีนเป็นตัวเหนียวน้ำ ในงานวิจัยนี้ได้ทำการสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่มีซีเตรตเป็นสเตบิลไลเซอร์จึงทำให้สภาพผิวอนุภาคเป็นลบ ส่วนเบอร์เบอร์รีนจะมีสภาพเป็นบวกทำให้สามารถเหนียวน้ำให้เกิดการรวมตัวกันของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ได้ เมื่อเกิดการรวมตัวกันจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีจากสีเหลืองไปเป็นสีเขียวถึงสีฟ้าซึ่งจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเบอร์เบอร์รีน จากนั้นจึงนำไปตรวจวัดการกระเจิงของแสง ที่ความยาวคลื่น 396 นาโนเมตร พบว่าสามารถตรวจวัดได้ในช่วง 0.05-0.4 ไมโครโมลาร์ ซึ่งวิธีดังกล่าวสามารถทำได้ง่ายและใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อย จึงทำให้สามารถทำการวิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในงานวิจัยนี้ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณกาบา ด้วยระบบซีควนเซียลอินเจคชันโดยอาศัยการรวมตัวกันของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่มีขีดตรงเป็นสเตบิลไอเซอร์ ซึ่งทำให้สภาพผิวของอนุภาคนาโนซิลเวอร์เป็นลบ และกาบาที่มีสภาพเป็นบวกเมื่อควบคุมค่า pH ให้เท่ากับ 3.8 ซึ่งต่ำกว่าค่า pKa ของหมู่คาร์บอกซิลิก จึงเกิดการเหนี่ยวนำให้อนุภาคนาโนซิลเวอร์เกิดการรวมตัวกันขึ้น จากนั้นติดตามการเปลี่ยนแปลงด้วยการตรวจวัดการกระเจิงแสงด้วยเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ โดยค่าการกระเจิงแสงจะแปรผันตรงกับปริมาณกาบาที่เพิ่มขึ้น



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

3.1.1 สารเคมี

ในการทำการวิจัยนี้ได้จัดเตรียมสารเคมี อุปกรณ์ และเครื่องมือต่างๆ เพื่อนำไปเตรียมสารละลาย ที่ใช้ในการทดลอง หรือใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ สำหรับตรวจวัดหาปริมาณความเข้มข้นของกาบา โดยใช้ระบบซีควนเซียลอนเจคชัน และตรวจวัดด้วยเทคนิคสเปกโทรฟลูออโรเมทรี ดังนี้

ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	ความบริสุทธิ์ (%)	ยี่ห้อและประเทศผู้ผลิต
แกมมา อะมิโนบิวทริก แอซิด (γ -Aminobutyric acid)	$C_4H_9NO_2$	≥ 99	Sigma-Aldrich, China
โซเดียมโบโรไฮไดรด์ (Sodium borohydride)	$NaBH_4$	99	Sigma-Aldrich, Germany
กรดอะซิติก (Acetic acid)	CH_3COOH	99.5 - 105.0	Carlo Erba, UK
โซเดียมอะซิเตท (Sodium acetate anhydrous)	$CH_3COONa \cdot 3H_2O$	99.5	Rankem, India
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide)	$NaOH$	98	Rankem,, India
ซิลเวอร์ไนเตรท (Silver nitrate)	$AgNO_3$	99.88	Carlo Erba, UK
โซเดียมซิเตรท (Sodium citrate)	$C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$	99	Sigma-Aldrich, Japan

3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องตรวจวัด

1. ขวดวัดปริมาตร
2. ปีกเกอร์
3. ปิเปต และ ไมโครปิเปต
4. หลอดหยด
5. กระจกบอทดวง
6. ซ้อนตักสาร
7. ขวดทดลองแบบมีฝาปิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. อลูมิเนียมฟอยล์
9. แท่งแก้วคนสาร
10. นาฬิกาจับเวลา
11. เครื่องเขย่าสาร Vortex (Genie 2, USA)
12. เครื่องวัดพีเอช (Metrohm, 827 pH Lab Meter, USA)
13. เครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้าพร้อมแท่งกวนแม่เหล็กไฟฟ้า (Heidoph, MR 1000, Germany)
14. เครื่องยูวี – วิซิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Jasco V630, USA)
15. เครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ (Jasco FP-8000, USA)
16. อุปกรณ์สำหรับสร้างระบบซีควนเซียลอินเจคชัน ได้แก่
 - 16.1 8 – พอร์ตมัลติซีเลกชันวาร์ว (HAMILTON, Serial MVP, Switzerland)
 - 16.2 โมลดูลวาร์วโพซิชั่นเนอร์ (HAMILTON, HVC ‘T’ 3-2, Switzerland)
 - 16.3 โพลทรูเซลล์สำหรับใช้กับเครื่องยูวี-วิซิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Hellma, 176.052-QS, USA)
 - 16.4 โพลทรูเซลล์สำหรับใช้กับเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ (Hellma, 176.052 QS, USA)
 - 16.5 PTFE tube ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 1.0 มิลลิเมตร (Vici AG International, JR-T68 07-M, Switzerland)

3.2 การเตรียมสารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการทดลองเป็นชนิดเกรดวิเคราะห์ (Analytical reagent grade) และการเตรียมสารละลายทั้งหมดใช้น้ำกลั่นปราศจากไอออน (Deionization water)

3.2.1 การเตรียมอนุภาคนาโนซิลเวอร์ [17]

1. เตรียมสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทความเข้มข้น 0.64 มิลลิโมลาร์ โดยชั่งซิลเวอร์ไนเตรท 0.0108 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน และปรับปริมาตรจนครบ 100.00 มิลลิลิตร
 2. เตรียมสารละลายโซเดียมซิเตรทความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ โดยชั่งโซเดียมซิเตรท 0.01 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน และปรับปริมาตรจนครบ 100.00 มิลลิลิตร
 3. เตรียมสารละลายโซเดียมโบโรไฮไดรด์ ร้อยละ 0.1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ชั่งโซเดียมโบโรไฮไดรด์ 0.0250 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน และปรับปริมาตรจนครบ 25.00 มิลลิลิตร
- การสังเคราะห์ทำได้โดย ปิเปตสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทเข้มข้น 0.64 มิลลิโมลาร์ (จากข้อ 1) ปริมาตร 39.00 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 600.00 มิลลิลิตร เติมสารละลายโซเดียมซิเตรทเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ (จากข้อที่ 2) ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร บั่นกวนเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นหยุดสารละลายโซเดียมโบโรไฮไดรด์เข้มข้น ร้อยละ 0.1 น้ำหนักต่อปริมาตร (จากข้อที่ 3) โดยระหว่างหยุดสารละลายยังคงบั่นกวนอยู่ สารละลายจะเปลี่ยนจากสีดำเป็นสีเหลืองใส และบั่นกวนต่อเป็นเวลา 1 ชั่วโมง เก็บสารละลายในตู้เย็นอุณหภูมิ ± 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ก่อนนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2 การเตรียมสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ (ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ พีเอช 3.80)

1. เตรียมสารละลายโซเดียมอะซิเตทความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ โดยชั่งโซเดียมอะซิเตทไตรไฮเดรตมา 3.4020 กรัม ละลายด้วยน้ำและปรับปริมาตรจนครบ 250.00 มิลลิลิตร
2. เตรียมสารละลายกรดแอสติกความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ โดยปิเปตกรดแอสติก 14.93 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรจนครบ 500.00 มิลลิลิตร
3. จากนั้นนำสารละลายกรดแอสติกความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ปริมาตร 450.60 มิลลิลิตร (จากข้อ 1) มาผสมกับสารละลายสารละลายโซเดียมอะซิเตทความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ปริมาตร 49.40 มิลลิลิตร (จากข้อ 2) และปรับพีเอชให้เท่ากับ 3.80 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์

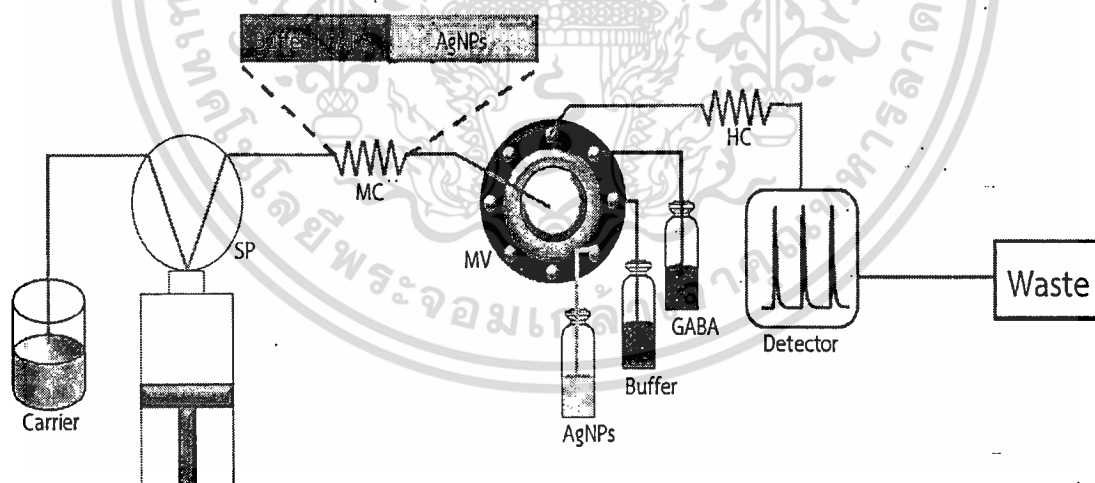
3.2.3 การเตรียมสารละลายสต็อกมาตรฐานกาบา

เตรียมสารละลายสต็อกมาตรฐานกาบา 500 มิลลิกรัมต่อลิตร (Stock solution) โดยชั่งกาบา 0.0500 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วยสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์พีเอช 3.80 เป็น 100.00 มิลลิลิตร และเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ก่อนตรวจวัด สารละลายสต็อกมาตรฐานกาบาที่เตรียมขึ้นนี้จะนำไปใช้สำหรับเตรียมสารละลายมาตรฐานกาบาความเข้มข้นต่างๆต่อไป

3.3 วิธีดำเนินการทดลอง

3.3.1 การออกแบบระบบซีควนเชียลอินเจกชัน

ระบบซีควนเชียลอินเจกชันในการวิเคราะห์หาปริมาณกาบาแบบอัตโนมัติ แสดงดังรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 แสดงระบบระบบซีควนเชียลอินเจกชันอะนาไลซิสที่ได้ออกแบบ เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณกาบาแบบอัตโนมัติ; Carrier: น้ำกลั่นปราศจากไอออน, SP: โซริงค์บีม, HC: ท่อไฮดรอลิกคอยล์, MV: มัลติซีเลกชันวาล์ว, AgNPs: สารละลายอนุภาคนาโนซิลเวอร์, Buffer: แอซิเตทบัฟเฟอร์, GABA: สารละลายมาตรฐานกาบา, MC: ท่อมิกซิงค์คอยล์, Detector: เครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2 ลำดับขั้นตอนการวิเคราะห์หาปริมาณกาบา โดยอาศัยระบบซีเควนเซียลอินเจกชัน

1. ดูดสารละลายตัวพา (น้ำกลั่นปราศจากไอออน) ปริมาตร 2200 ไมโครลิตรเข้าสู่ไซริงค์บีมด้วยอัตราเร็ว 100 ไมโครลิตรต่อวินาที
2. ดูดสารละลายแอซิเตทบัฟเฟอร์พีเอช 3.80 ปริมาตร 90 ไมโครลิตร ด้วยอัตราเร็ว 20 ไมโครลิตรต่อวินาที เข้าสู่ระบบโดยเก็บไว้ที่ท่อโฮลดีงคอยล์
หมายเหตุ ใช้แอซิเตทบัฟเฟอร์เป็นตัวปรับปริมาตร เพื่อให้ความเข้มข้นของสารละลายกาบาตามต้องการ
3. ดูดสารละลายสต็อคมาตรฐานกาบาความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ด้วยอัตราเร็ว 20 ไมโครลิตรต่อวินาที เข้าสู่ระบบโดยเก็บไว้ที่ท่อโฮลดีงคอยล์
หมายเหตุ ในกรณีนี้จะได้ความเข้มข้นของสารละลายในปริมาตรรวม 100 ไมโครลิตร เป็น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร
4. ดูดรีเอเจนต์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ด้วยอัตราเร็ว 20 ไมโครลิตรต่อวินาที เข้าสู่ระบบโดยเก็บไว้ที่ท่อโฮลดีงคอยล์
5. ผลักสารละลายเข้าสู่ระบบตรวจวัด ด้วยอัตราเร็ว 20 ไมโครลิตรต่อวินาที เพื่อวัดค่าการกระเจิงแสง ด้วยเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์
6. ทำซ้ำข้อ 1-5 โดยเปลี่ยนปริมาตรบัฟเฟอร์เป็น 80, 70 และ 60 ไมโครลิตร และเปลี่ยนปริมาตรสารละลายสต็อคมาตรฐานกาบาเป็น 20, 30 และ 40 ไมโครลิตรสำหรับสารละลายกาบาความเข้มข้น 100, 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ตารางที่ 3.1 แสดงปริมาตรของสารละลายสารแอซิเตทบัฟเฟอร์พีเอช 3.80, สารละลายสต็อคมาตรฐานกาบาความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และอนุภาคนาโนซิลเวอร์ เพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน

ความเข้มข้นของสารละลาย (ppm)	ปริมาตรสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์พีเอช 3.80 (μL)	ปริมาตรมาตรฐานสารละลายกาบา ppm (μL)	ปริมาตรมาตรฐานรีเอเจนต์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ (μL)	ปริมาตรรวม (μL)
0	100.00	0.00	100.00	200.00
50	90.00	10.00	100.00	200.00
100	80.00	20.00	100.00	200.00
150	70.00	30.00	100.00	200.00
200	60.00	40.00	100.00	200.00

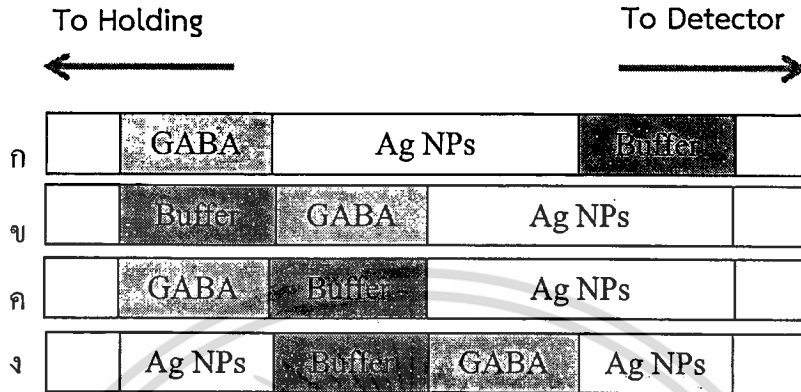
3.3.3 การศึกษาอัตราส่วนปริมาตรสารละลายต่างๆที่ดูดเข้าในระบบ SI เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์

ทำการศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์กาบา ทั้งปัจจัยทางกายภาพและทางเคมี ที่สามารถส่งผลต่อการกระเจิงแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.3.1 ศึกษาอิทธิพลของลำดับในการทำปฏิกิริยา

ทำการศึกษาอิทธิพลเนื่องจากลำดับในการทำปฏิกิริยาที่ส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์ โดยใช้ความยาวของท่อผสม 150 เซนติเมตร ที่ความเข้มข้น 200, 400, 600, 800 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยลำดับในการทำปฏิกิริยาที่ศึกษา ดังแสดงในรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 แสดงลำดับท่อโซนที่ดูดเข้ามาในโหนดคอกอยล์ โดยภาพ ก, ข, และ ค เป็นลำดับการทำปฏิกิริยาแบบ non-sandwich และภาพ ง เป็นลำดับในการทำปฏิกิริยาแบบ sandwich กำหนดให้ GABA คือ สารละลายมาตรฐานกาบาความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร AgNPs คือ รีเอเจนต์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ Buffer คือ แอซิเตทบัฟเฟอร์พีเอช 3.80 โดยในรูปเป็นอัตราส่วนโดยปริมาตร (แอซิเตทบัฟเฟอร์กับสต็อกของกาบาต่ออนุภาคนาโนซิลเวอร์) เป็น 1:1

3.3.3.2 ศึกษาอิทธิพลของความยาวมิกซิงค์คอกอยล์

ทำการศึกษาอิทธิพลเนื่องจากความยาวมิกซิงค์คอกอยล์ ที่ส่งผลต่อระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาและความไวในการวิเคราะห์ โดยใช้สารละลายมาตรฐานกาบาปริมาตร 100 ไมโครลิตร (ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ถึง 200 มิลลิกรัมต่อลิตร) และรีเอเจนต์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และศึกษาความยาวของท่อผสมที่เลือกคือ ไม่มีท่อผสม, 50, 100 และ 150 เซนติเมตร

3.3.3.3 ศึกษาอิทธิพลของอัตราการไหล

ทำการศึกษาอิทธิพลเนื่องจากอัตราการไหลที่ส่งผลต่อการเกิดปฏิกิริยา และความไวในการวิเคราะห์ โดยอัตราการไหลที่เลือกศึกษาคือ อัตราในการดูด/ผลัก (10/10, 15/15, 20/20 และ 10/15 ไมโครลิตรต่อวินาที)

3.3.3.4 ศึกษาอิทธิพลของระยะเวลาในการบ่มสารละลายมาตรฐานกาบาก่อนทำการวิเคราะห์ (incubation time)

ทำการศึกษาอิทธิพลของระยะเวลาในการเก็บสารละลายมาตรฐานกาบา (incubation time) ที่ส่งผลต่อการเกิดปฏิกิริยาในการวิเคราะห์ โดยเวลาที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ 2, 6, 10, 12 และ 24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.3.5 ศึกษาอิทธิพลเนื่องจากความเข้มข้นของแอสิตเทบัพเฟอร์พีเอช 3.80 ที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยา

ศึกษาอิทธิพลความเข้มข้นของแอสิตเทบัพเฟอร์พีเอช 3.80ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาที่ส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์โดยความเข้มข้นที่ศึกษา คือ 0.01, 0.05, 0.1 และ 0.5 โมลาร์

3.3.3.6 ศึกษาอิทธิพลเนื่องจากความเข้มข้นของรีเอเจนต์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยา

การศึกษาอิทธิพลความเข้มข้นของรีเอเจนต์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา ที่ส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์ โดยความเข้มข้นที่ศึกษา ได้แก่ 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, และ 0.5 มิลลิโมลาร์

3.3.3.7 ศึกษาอิทธิพลของปริมาตรอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยา ทำการศึกษาอิทธิพลของปริมาตรรีเอเจนต์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา ที่ส่งผลต่อการวิเคราะห์ โดยปริมาตรของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ศึกษา ได้แก่ 25, 50, 100 และ 200 ไมโครลิตร

3.3.3.8 ศึกษาความยาวคลื่นแสงที่ใช้กระตุ้น

ทำการศึกษาความยาวคลื่นแสงที่เหมาะสมที่ใช้ในการกระตุ้นที่ความยาวคลื่น 225, 250, 275, 300, 325 และ 350 นาโนเมตร

3.3.4 การสร้างกราฟมาตรฐานที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสม

เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกาบาแบบอัตโนมัติ โดยใช้ระบบ SI แล้ว จึงได้ทำการสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณกาบา โดยพลอต กราฟระหว่างแกน x เป็นค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกาบาที่ได้กำหนดไว้และ แกน y ซึ่งเป็นสัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์ที่หักลบค่าของแบล็กออกแล้ว ซึ่งจะได้กราฟมาตรฐานตามที่ต้องการ และคำนวณอัตราการวิเคราะห์ตัวอย่างต่อชั่วโมง

3.3.5 ประเมินคุณลักษณะเด่นของวิธีวิเคราะห์

3.3.5.1 ความเที่ยง (precision) ของวิธีวิเคราะห์

ในการหาความเที่ยงของวิธี จะพิจารณาจากค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ โดยการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานกาบา ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นจำนวน 5 ครั้ง จากนั้นจากนั้นหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ตามสูตรดังนี้

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

เมื่อ SD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
 \bar{X} คือ ค่าเฉลี่ย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.5.2 ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (Limit of detection, LOD)

ในส่วนนี้เป็นการหาขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดของวิธี ซึ่งคำนวณได้ตามสูตรดังนี้

$$\text{LOD} = 3\text{SD of signal/slope}$$

เมื่อ	SD of blank	คือ	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณ
	Slope	คือ	ค่าความชันที่ได้จากกราฟมาตรฐาน

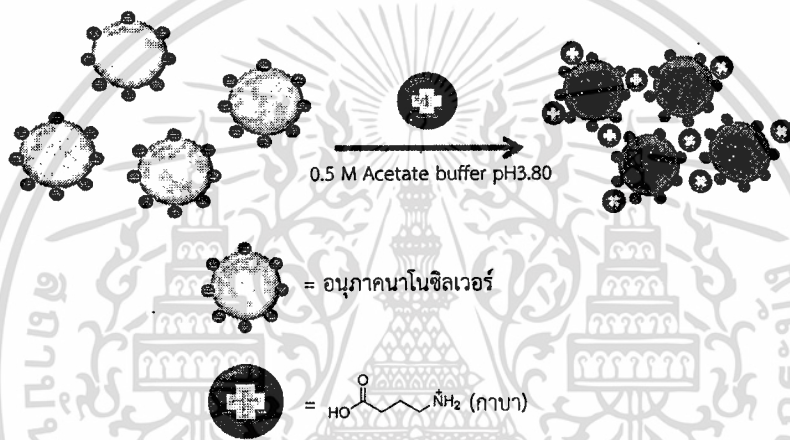


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลก้ำารวิจัยและอภิปรายผล

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาระบบซีควนเชียลอินเจคชันในการทำปฏิกิริยาระหว่างอนุภาค นาโนซิลเวอร์กับกาบาแบบอัตโนมัติเพื่อหาปริมาณกาบา อาศัยหลักการการรวมตัวของอนุภาค นาโนซิลเวอร์ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยกาบาซึ่งถูกควบคุมให้มีสภาพประจุเป็นบวก แล้วจึงทำการตรวจวัดปริมาณด้วยการกระเจิงแสงด้วยเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ โดยเมื่อกาบามีปริมาณมากขึ้น จะเกิดการเหนี่ยวนำอนุภาคนาโนซิลเวอร์ให้เกิดการรวมตัวกันมากขึ้น กลไกการเกิดปฏิกิริยาแสดงดังรูปที่ 4.1 ดังนั้นค่าการกระเจิงแสงที่ได้จะแปรผันตรงกับปริมาณกาบา จากหลักการข้างต้นจึงได้ทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของวิธีวิเคราะห์ ดังแสดงผลการทดลอง และอภิปรายผลการทดลองต่างๆดังนี้

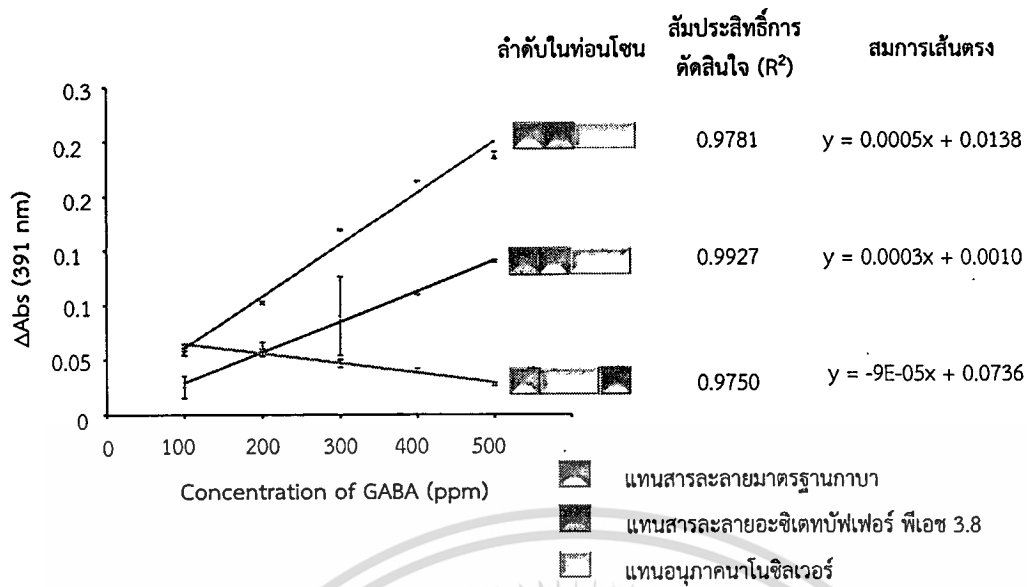


รูปที่ 4.1 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาการรวมตัวของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ซึ่งถูกเหนี่ยวนำด้วยกาบาที่ควบคุมพีเอชให้มีประจุเป็นบวก

4.1 ผลการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของวิธีวิเคราะห์

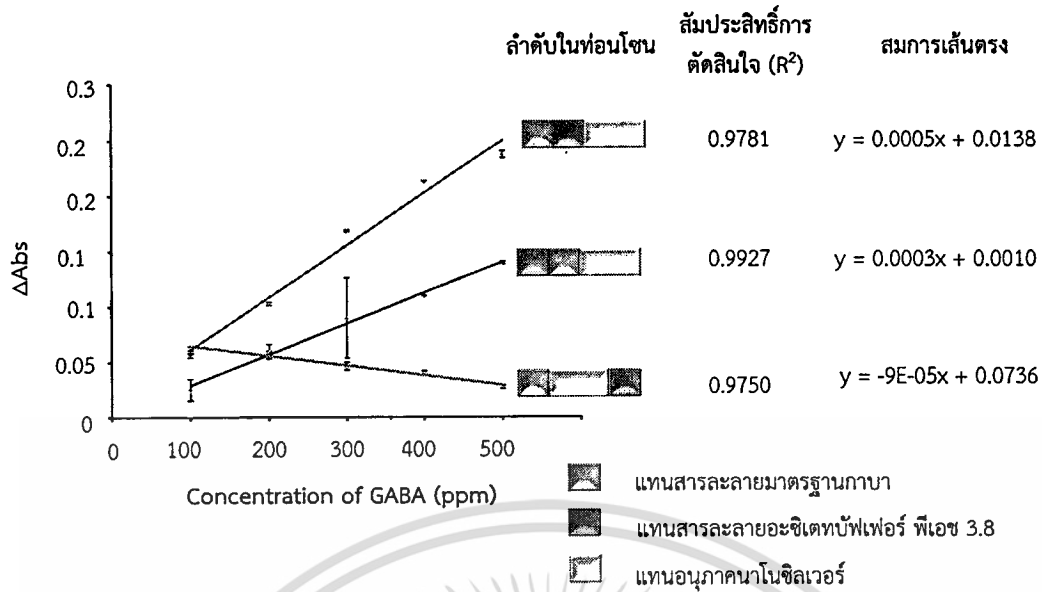
4.1.1 ผลการศึกษาอิทธิพลของลำดับในการทำปฏิกิริยา

ทำการศึกษาอิทธิพลของลำดับในการทำปฏิกิริยาที่ส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์ โดยทำการสลับลำดับของสารละลายในระบบเพื่อเลือกลำดับที่ให้ความไว (sensitivity) สูงที่สุด โดยในการทดลองนี้จะใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ในการตรวจวัด ได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.2



รูปที่ 4.2 แสดงผลของลำดับในท่อนโชนโสดดงคยลที่สงผลต่อค่าการดูดกลนแสงของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ (ΔAbs : ผลต่างของค่าการดูดกลนแสงระหว่างแบลนค้กับสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นต่างๆ)

จากผลการทดลองพบว่เมือใช้ลำดับการทำปฏิกิริยาแบบ(Bffer/Std.GABA/AgNPs) และแบบ (Std.GABA/ Buffer/ AgNPs) จะให้ความไวในการวิเคราะห์สูงกว่แบบอื่นโดยพิจารณาจากความชันเนืองจากลำดับทั้งสองแบบค่าความชันใกล้เคียงกัน แต่เมือพิจารณาที่ค่าสัมประสิทธิ์การตัดลนใจพบว่าลำดับแบบ (Std.GABA/ Buffer/ AgNPs) ให้ค่าสัมประสิทธิ์การตัดลนใจที่ดีกว่ คือ 0.9927 จึงเลือกลำดับนี้ มาทำการศึกษาลำดับการทำปฏิกิริยาแบบ sandwich และ non-sandwich ต่อไปโดยอาศัยเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ ในการติดตามค่าการกระเจิงแสง

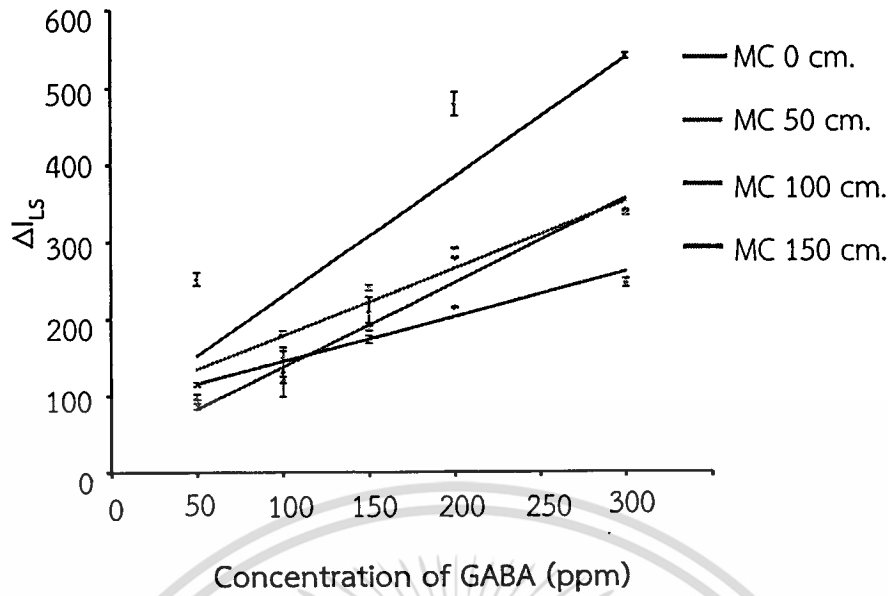


รูปที่ 4.3 แสดงผลของลําดับการทำปฏิกิริยาแบบ sandwich และ non-sandwich ในท่อนโชน โยลตั้งคอยล์ที่ส่งผลต่อค่าการกระเจิงแสงของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ (ΔI_{LS} : ผลต่างของค่าการกระเจิงแสงระหว่างแบลนด์กับสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นต่างๆ)

จากรูปที่ 4.3 จะเห็นได้ชัดว่าการทำปฏิกิริยาแบบ non-sandwich ให้ความไวในการวิเคราะห์และค่าสัมประสิทธิ์การตัดลืนใจที่ดีกว่าการทำปฏิกิริยาแบบ sandwich เนื่องจากการทำปฏิกิริยาแบบ sandwich คือการนำอนุภาคนาโนซิลเวอร์ประกบระหว่างท่อนโชนของสารละลายมาตรฐานกาบากับสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ ทำให้อนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ติดกับสารละลายบัฟเฟอร์เข้าทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานกาบาได้ยากขึ้น จึงเกิดปฏิกิริยาได้ไม่ดี ความไวในการวิเคราะห์จึงต่ำกว่าแบบ non-sandwich ดังนั้นจึงเลือกลําดับการทำปฏิกิริยาแบบ non-sandwich (Std.GABA/ Buffer/ AgNPs) มาทำการศึกษาปัจจัยอื่นๆต่อไป

4.1.2 ผลการศึกษาอิทธิพลความยาวของมิกซิงคอยล์

ทำการศึกษาอิทธิพลของความยาวมิกซิงคอยล์ภายในระบบ ที่ส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์ปริมาณกาบา โดยศึกษาความยาวของมิกซิงคอยล์ที่ 0, 50, 100, และ 150 เซนติเมตรแสดงผลดังรูปที่ 4.4 และตารางที่ 4.1



รูปที่ 4.4 แสดงผลของความยาวของมิกซิงคอยล์ที่ 0, 50, 100, และ 150 เซนติเมตร ซึ่งส่งผลต่อค่าการกระเจิงของแสงของอนุภาคนาโนซิลเวอร์เมื่อมี กาบาคความเข้มข้นต่างๆกันตามลำดับ (MC : มิกซิงค์คอยล์)

ตารางที่ 4.1 สรุปสมการเชิงเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเมื่อใช้ความยาวของมิกซิงคอยล์ในระบบ SI สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกาบาค

ความยาวของมิกซิงคอยล์ (เซนติเมตร)	สมการเส้นตรง	ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2)	อัตราการวิเคราะห์ (ตัวอย่าง/ชั่วโมง)
0	$y = 1.5447x + 75.243$	$R^2 = 0.698$	13
50	$y = 0.8734x + 90.959$	$R^2 = 0.959$	14
100	$y = 1.0973x + 27.432$	$R^2 = 0.939$	13
150	$y = 0.5827x + 86.568$	$R^2 = 0.923$	13

จากการศึกษาพบว่าเมื่อความยาวของมิกซิงคอยล์เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารละลายมาตรฐานกาบาคกับอนุภาคนาโนซิลเวอร์มากขึ้น เมื่อพิจารณาค่าความไวและค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ พบว่า ที่ความยาว 50 และ 100 เซนติเมตร มีค่าที่ดีที่สุด และใกล้เคียงกัน แต่การใช้มิกซิงคอยล์ที่มีความยาว 50 เซนติเมตร จะทำให้ระยะเวลาในการวิเคราะห์น้อยกว่าการใช้มิกซิงคอยล์ที่มีความยาว 100 เซนติเมตร ดังนั้นในงานวิจัยจึงเลือกความยาวมิกซิงคอยล์ที่ 50 เซนติเมตร

4.1.3 ผลการศึกษาอิทธิพลของอัตราการไหล

ทำการศึกษาอัตราการไหลของสารละลายภายในท่อขณะดูดสารละลายเข้าสู่ไฮโดรคอยล์และผลึกสารเข้าสู่ระบบการตรวจวัด โดยอัตราการไหลที่ทำการศึกษาคณะดูดและผลึกสารละลายเข้าสู่ระบบ ได้แก่ 10:10, 15:15, 20:20 และ 10:15 ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

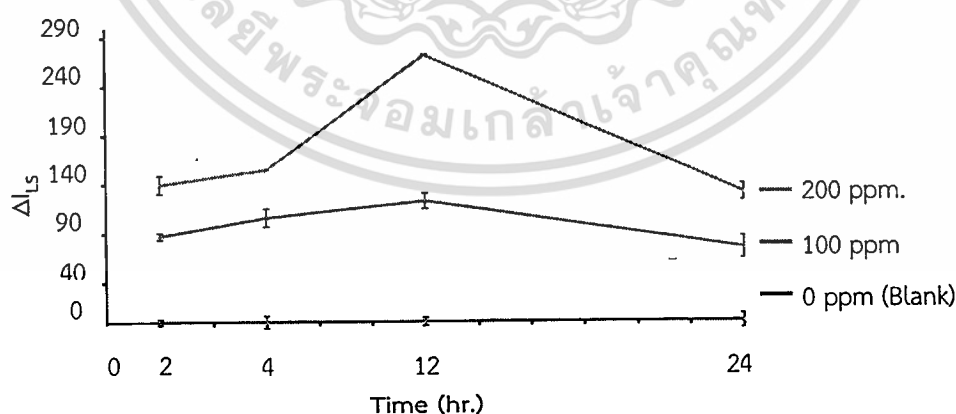
ตารางที่ 4.2 สรุปสมการเชิงเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเมื่อใช้อัตราการไหลที่แตกต่างกัน

อัตราการไหล (ดูดต่อผลึก, ไมโครลิตรต่อ วินาที)	สมการเส้นตรง	ค่าสัมประสิทธิ์การ ตัดสินใจ (R^2)	อัตราการวิเคราะห์ (ตัวอย่าง/ชั่วโมง)
10 ต่อ 10	$y = 0.4143x + 14$	$R^2 = 0.9991$	8
10 ต่อ 15	$y = 0.46x + 30$	$R^2 = 0.8758$	11
15 ต่อ 15	$y = 0.2957x + 2$	$R^2 = 0.9643$	11
20 ต่อ 20	$y = 0.3971x + 28$	$R^2 = 0.9725$	14

จากผลการทดลองพบว่า ถึงแม้อัตราการไหล (ดูด:ผลึก) ที่ 10:10 ไมโครลิตรต่อวินาที จะให้ความไวและค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจที่ดี แต่ที่อัตราการไหลนี้จะทำให้อัตราการวิเคราะห์ตัวอย่างต่อชั่วโมงต่ำที่สุด คือ 8 ตัวอย่างต่อชั่วโมง ดังนั้นเพื่อให้การวิเคราะห์ทำได้รวดเร็ว จึงเลือกใช้อัตราการไหลที่ 20:20 ไมโครลิตรต่อวินาที ซึ่งอัตราการไหลนี้ยังให้ความไวและค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจที่ใช้ได้ สามารถวิเคราะห์ได้ถึง 14 ตัวอย่างต่อชั่วโมงดีที่ จึงเลือกอัตราการไหลที่ 20:20 ไมโครลิตรต่อวินาทีมาศึกษาหัวข้ออื่นๆต่อไป

4.1.4 ผลการศึกษาอิทธิพลของระยะเวลาในการบ่มสารละลายกาบา

เนื่องจากกาบาเป็นกรดอะมิโนชนิดหนึ่งซึ่งประกอบด้วยหมู่คาร์บอกซิลิก และหมู่อะมิโน ดังนั้นกาบาจึงมี pKa 2ค่า คือ 4.23 และ 10.43 ตามลำดับ ในงานวิจัยนี้ ต้องการให้กาบาอยู่ในสภาวะที่มีประจุเป็นบวก จึงจำเป็นต้องควบคุม พีเอชของสารละลายให้มีค่าต่ำกว่า pK_{a1} โดยเลือกใช้สารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ พีเอช. 3.8 ในการทำการทดลอง โดยทำการเตรียมสารละลายกาบา และปรับปริมาตรด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ดังกล่าว จากนั้นตั้งทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 2, 6, 12, และ 24 ชั่วโมงก่อนนำมาใช้ในการทดลองด้วยระบบ SI แสดงผลดัง รูปที่ 4.5



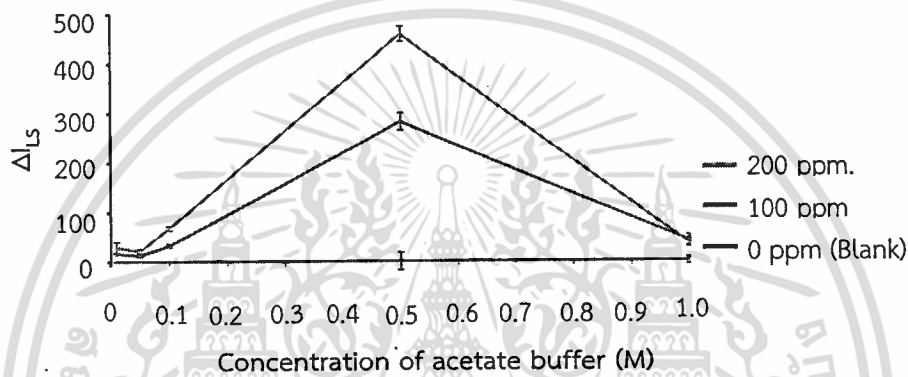
รูปที่ 4.5 แสดงค่าการกระเจิงแสงของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารละลายมาตรฐานกาบาที่เตรียมในสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ พีเอช. 3.8 ทิ้งไว้ที่เวลา 2, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปผลการทดลองที่ 4.4 จะพบว่าช่วงเวลาที่บ่มสารกาบา ตั้งแต่ 9 ถึง 13 ชั่วโมงผลต่างของสัญญาณระหว่างสารละลายมาตรฐานกาบาความเข้มข้น 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเทียบกับสัญญาณของแบลนด์ จะให้ความต่างของสัญญาณมากที่สุด จึงทำการบ่มสารละลายมาตรฐานกาบาเป็นเวลาประมาณ 12 ชั่วโมง ก่อนนำมาทำการวิเคราะห์โดยระบบ SI

4.1.5 ผลการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์

ทำการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ พีเอช 3.8 ต่อการเกิดปฏิกิริยา ที่ความเข้มข้น 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 และ 1 โมลาร์ ในการเตรียมสารละลายมาตรฐานกาบา และปรับปริมาตรสารในระบบ SI ได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4.6

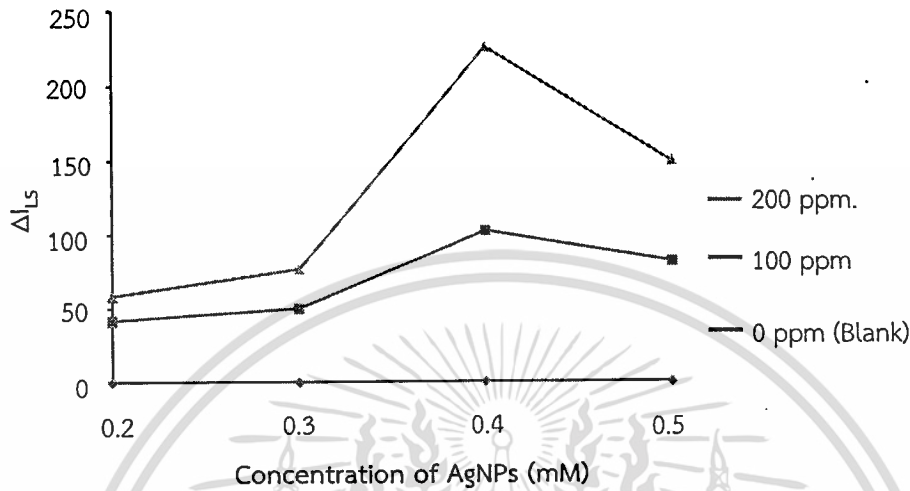


รูปที่ 4.6 แสดงค่าการกระเจิงแสงของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารละลายมาตรฐานกาบาในสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ pH 3.8 ที่ความเข้มข้น 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 และ 1 โมลาร์

ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเกิดการรวมตัวกันของอนุภาคนาโนซิลเวอร์มีหลายอย่าง หนึ่งในนั้นคือค่าความแรงของประจุ (ionic strength) จากงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่า การกระจายตัวของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ในตัวกลางที่มีค่าความแรงของประจุสูง จะทำให้เกิดการรวมตัวกันเองของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ (self-aggregation) [16] จากผลการทดลองพบว่าสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีความเข้มข้นต่ำ (0.01-0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร) กาบาไม่มีอิทธิพลมากพอที่จะเหนี่ยวนำให้เกิดการรวมตัวของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ได้ ในขณะที่สารละลายบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นค่าความแรงของประจุที่เหมาะสมทำให้อนุภาคนาโนซิลเวอร์พร้อมที่จะเกิดการรวมตัวกัน เมื่อเติมกาบาความเข้มข้นต่างๆลงไปทำให้เกิดการรวมตัวกันของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ซึ่งแปรตามความเข้มข้นของกาบา อย่างไรก็ตามสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีความเข้มข้นสูง (1 มิลลิกรัมต่อลิตร) อนุภาคนาโนซิลเวอร์สามารถเกิดการรวมตัวกันเองได้เนื่องจากค่าความแรงของประจุที่สูง จึงทำให้การรวมตัวกันของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ไม่ขึ้นกับความเข้มข้นของกาบา ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากให้ค่าการกระเจิงแสงที่แปรตามความเข้มข้นของกาบา

4.1.6 ผลการศึกษาความเข้มข้นของอนุภาคนาโนซิลเวอร์

ทำการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ต่อการเกิดปฏิกิริยาที่ความเข้มข้น 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 มิลลิโมลาร์ ทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานกาบา ได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4.7

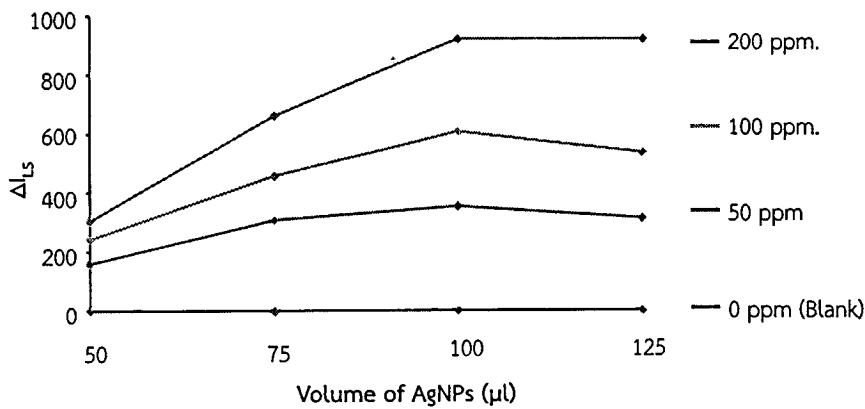


รูปที่ 4.7 แสดงค่าการกระเจิงแสงของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ความเข้มข้น 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 มิลลิโมลาร์ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารละลายมาตรฐานกาบาในสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ pH 3.8 ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์

จากผลการทดลองอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ความเข้มข้น 0.4 มิลลิโมลาร์ มีความแตกต่างของค่าการกระเจิงแสงมากที่สุด เนื่องจากที่ความเข้มข้น 0.2 และ 0.3 มิลลิโมลาร์ ปริมาณของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ในสารละลายน้อย จึงเกิดการรวมตัวกันได้น้อยทำให้ค่าการกระเจิงแสงต่ำ แต่ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์นั้น ปริมาณของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ในสารละลายมากจนทำให้ เมื่อเกิดการรวมตัวกันขึ้น ขนาดอนุภาคมีขนาดใหญ่จนเกิดการบดบังแสงที่กระเจิงเข้าสู่เครื่องตรวจวัด ค่าการกระเจิงแสงจึงต่ำลง ดังนั้นจึงเลือกความเข้มข้นของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ 0.4 มิลลิโมลาร์

4.1.7 ผลการศึกษาปริมาตรของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่เข้าทำปฏิกิริยา

ศึกษาปริมาตรของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ 50, 75, 100 และ 125 ไมโครลิตรเข้าทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานกาบา ได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4.8

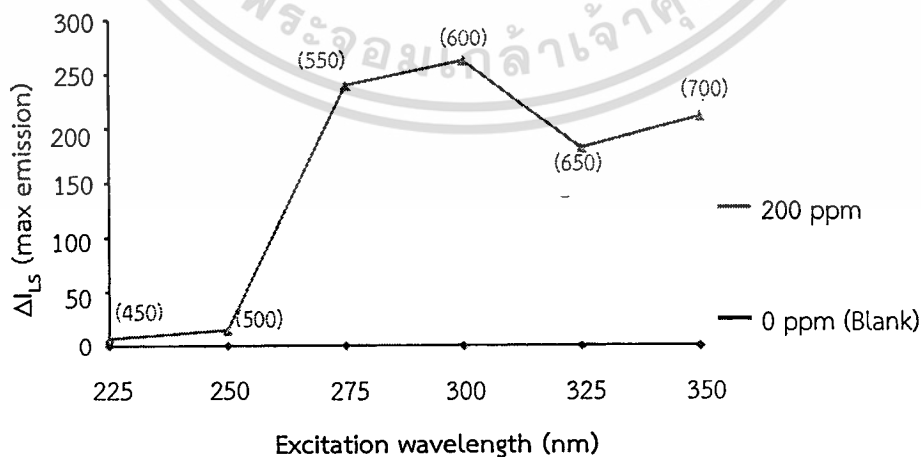


รูปที่ 4.8 แสดงค่าการกระเจิงแสงของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ความเข้มข้น 0.4 มิลลิโมลาร์ที่ปริมาตร 50, 75, 100 และ 125 ไมโครลิตร ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารละลายมาตรฐานกาบาในสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ พีเอช 3.8 ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์

จากผลการทดลองเมื่อเพิ่มปริมาตรของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ตั้งแต่ 50 ถึง 100 ไมโครลิตร และที่ 125 ไมโครลิตรค่าการกระเจิงแสงเริ่มคงที่ เนื่องจากปริมาตรของอนุภาคนาโนซิลเวอร์เพิ่มขึ้น ทำให้เกิดการรวมตัวกันได้มากขึ้นเกิดการกระเจิงแสงมากขึ้น ดังนั้นจึงเลือกปริมาตรของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ 100 ไมโครลิตรมาทำการศึกษาในหัวข้อต่อไป

4.1.8 ผลการศึกษาความยาวคลื่นแสงที่ใช้กระตุ้น

ศึกษาความยาวคลื่นที่เหมาะสมที่ใช้ในการกระตุ้นและการตรวจวัดที่ให้ความแตกต่างของค่าการกระเจิงแสงมากที่สุด เมื่อมีความเข้มข้นของสารละลายแตกต่างกันโดย ทำการศึกษาความยาวคลื่นในการกระตุ้นที่ 225, 250, 275, 300, 325 และ 350 นาโนเมตร พบว่ามีความยาวคลื่นที่ใช้ในการกระตุ้นดังกล่าว จะให้ค่าการกระเจิงแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 450, 500, 550, 600, 650 และ 700 นาโนเมตร ตามลำดับ



รูปที่ 4.9 แสดงค่าการกระเจิงแสงของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานกาบา

โดยใช้แสงกระตุ้นที่ความยาวคลื่น 225, 250, 275, 300, 325 และ 350 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ ค่าการกระเจิงแสงที่พล็อตในรูปที่ 4.8 เป็นค่าการกระเจิงแสงสูงสุดที่ได้จากแต่ละความยาวคลื่นที่ใช้กระตุ้น

จากผลการทดลองเมื่อใช้ความยาวคลื่น 300 นาโนเมตรเป็นแสงในการกระตุ้น พบว่าการกระเจิงแสงสูงสุด ให้ความยาวคลื่นดูดซับที่ 600 นาโนเมตร ค่าการกระเจิงแสงที่ความเข้มข้น 0 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าแตกต่างกันมากที่สุด ดังนั้นจึงเลือกความยาวคลื่นที่ 300 นาโนเมตรเป็นแสงในการกระตุ้น

จากผลการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการพัฒนาวิธีตรวจวัดปริมาณกาบด้วยอนุภาคนาโนซิลเวอร์ภายใต้ระบบซีควนเซียลอินเจชันได้สภาวะที่เหมาะสมดังสรุปในตารางที่ 4.3

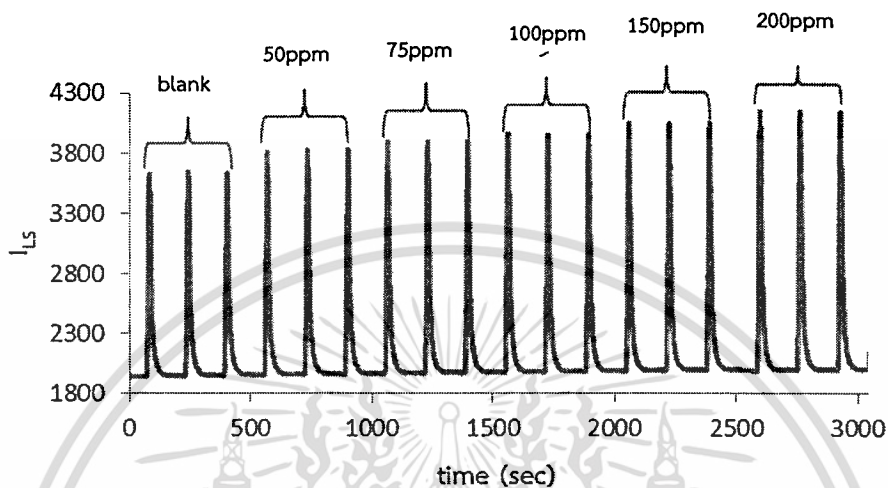
ตารางที่ 4.3 สรุปการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณกาบ ด้วยอนุภาคนาโนซิลเวอร์ภายใต้ระบบซีควนเซียลอินเจชัน

ปัจจัยที่ศึกษา	ค่าที่เลือก
ลำดับในการทำปฏิกิริยา	Buffer/ Std.GABA/ AgNPs
ความยาวของมิกซิงคอยล์	50 เซนติเมตร
อัตราการไหล	20-20 ไมโครลิตรต่อวินาที
ระยะเวลาในการบ่มสารละลายกาบ	12 ชั่วโมง
ความเข้มข้นของสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ พีเอช 3.8	0.5 โมลาร์
ความเข้มข้นของอนุภาคนาโนซิลเวอร์	0.4 มิลลิโมลาร์
ปริมาณของอนุภาคนาโนซิลเวอร์	100 ไมโครลิตร
ความยาวคลื่น	300 นาโนเมตร

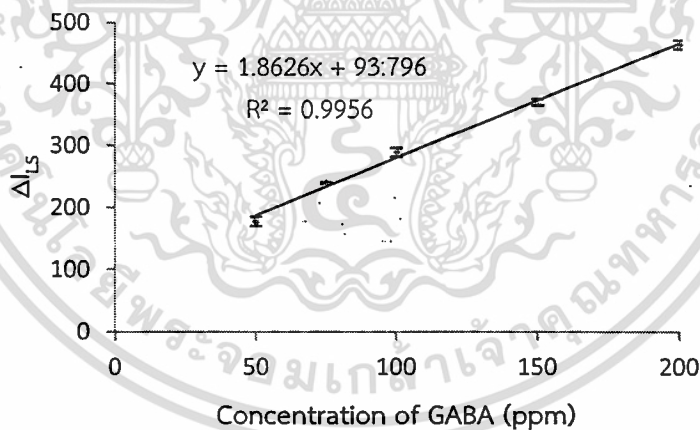
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 กราฟมาตรฐานที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสม

จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิธีวิเคราะห์หาปริมาณกาบาด้วยอนุภาคนาโน ซิลเวอร์ ภายใต้ระบบซีควนเซียลอินเจคชัน ได้สร้างกราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ดังแสดงในรูปที่ 4.10 และรูปที่ 4.11



รูปที่ 4.10 แสดงสัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานกาบาความเข้มข้น 50-200 มิลลิกรัมต่อลิตร



รูปที่ 4.11 แสดงกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกาบา ในช่วงความเข้มข้น 50-200 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากการศึกษาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณกาบาด้วยอนุภาคนาโนซิลเวอร์ภายใต้ระบบเอสไอที่พัฒนาขึ้น สามารถวิเคราะห์ปริมาณกาบาได้ในช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ 50-200 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีสมการเส้นตรงตามความสัมพันธ์คือ $\Delta I_S = 1.8626[\text{GABA}] + 93.796$ ($y = 1.8626x + 93.796$) และมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.9956 และได้อัตราการวิเคราะห์เท่ากับ 25 ตัวอย่างต่อชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ประเมินคุณลักษณะเด่นของวิธีวิเคราะห์

4.3.1 ความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์

ความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์พิจารณาจากค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ทำการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานกาบา ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 5 ครั้ง (n=5) จากนั้นหาค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ พบว่าได้ค่าเท่ากับ 0.5966 จึงถือได้ว่าวิธีวิเคราะห์นี้มีความเที่ยงที่สูง

$$\begin{aligned} \text{เมื่อ } SD &= \sqrt{\frac{\sum(X_i - \bar{X})^2}{N-1}} \\ \text{จาก } SD &= \sqrt{\frac{\sum(X_i - \bar{X})^2}{N-1}} \\ &= \sqrt{\frac{(2077-2060.8)^2 + (2070-2060.8)^2 + \dots + (2047-2060.8)^2}{5-1}} \\ &= \sqrt{\frac{604.8}{4}} \quad \therefore SD = 12.2963 \\ \text{จาก } \%RSD &= \frac{SD}{\bar{X}} \times 100 \\ &= \frac{12.2963}{2060.8} \times 100 \quad \therefore \%RSD = 0.5966 \end{aligned}$$

4.3.2 ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด

ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (Limit of Detection, LOD) ในส่วนนี้เป็นการหาขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด ทำการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานกาบา ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 5 ครั้ง (n=5) ของวิธีซึ่งคำนวณได้ตามสูตรนี้

$$LOD = 3SD \text{ of signal/slope}$$

$$\text{เมื่อ } SD \text{ เท่ากับ } 12.2963 \text{ ดังนั้น } LOD = (3 \times 12.2963)/1.8626$$

$$LOD = 19.8052 \text{ มิลลิกรัมต่อลิตร}$$

ดังนั้นขีดจำกัดต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ จึงเท่ากับ 19.8052 มิลลิกรัมต่อลิตร

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาระบบระบบ SI สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณกาบาด้วยอนุภาคนาโนซิลเวอร์ โดยระบบที่พัฒนาขึ้นนี้มีขีดจำกัดต่ำสุดที่ตรวจวัดได้คือ 19.80 มิลลิกรัมต่อลิตร ช่วงความเป็นเส้นตรงและช่วงใช้งาน เท่ากับ 50-200 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเท่ากับ 0.9956 ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ร้อยละ 0.5966 และมีอัตราการวิเคราะห์ตัวอย่างต่อชั่วโมงสูงถึง 25 ตัวอย่างต่อชั่วโมง อีกทั้งยังมีความสะดวก รวดเร็ว มีความเป็นอัตโนมัติ และประหยัดเนื่องจากใช้สารในการวิเคราะห์แต่ละครั้งน้อยมากเป็นระดับไมโครลิตร ระบบที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถนำไปพัฒนาเพื่อใช้ในการตรวจวัดปริมาณกาบาในตัวอย่างอาหารเช่น ผลไม้เนื้ออ่อนอาหารเสริม ใบชา หรือในข้าว ต่อไป



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 6
สรุปผลผลิตงานวิจัย

งานวิจัยนี้ได้รับการตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติ Journal of Food Composition and Analysis ในปี 2016 ในชื่อหัวข้อเรื่อง “Sequential injection for determination of gamma-aminobutyric acid based on its effect on second order light scattering of silver nanoparticles” รายละเอียดแสดงในภาคผนวก



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

1. นายอุดมชัย พลวิฑูรย์. 2553. “รายงานการฝึกปฏิบัติงานสัปดาห์ที่ 7.” ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.
 2. GABA in tea. Tea Institute. Mae Fah Luang University.
 3. Rowley, H.L. Martin, K.F. Marsden, C.A. 1994. “Determination of in Vivo Amino Acid Neurotransmitters by High-Performance Liquid Chromatography with *o*-phthalaldehyde Derivatisation.” *Journal of Neuroscience methods*. 57 : 93-99
 4. พรรวี แทนประมุข. 2557. “การพัฒนาระบบซีเควนเซียลอินเจกชันสำหรับการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์แบบอัตโนมัติและตรวจหาปริมาณกาบาด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ มหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
 5. http://en.wikipedia.org/wiki/Gamma-Aminobutyric_acid
 6. http://archive.lib.cmu.ac.th/full/T/2552/aphys0852pp_ch2.pdf
 7. ศิริวรรณ ตัญญา. 2556. “อนุภาคนาโนทอง: การสังเคราะห์และการประยุกต์สำหรับการวิเคราะห์ทางเคมี.” *J Sci Technol MSU*. 32 : 237-245
 8. Duan, J. Yin, H. Wei, R. Wang, W. 2014. “Facile Colorimetric Detector of Hg²⁺ based on Anti-Aggregation of Silver Nanoparticles.” *Biosensors and Bioelectronics*. 57 : 139-142
 9. Ping, H. Zhang, M. Li, H. Li, S. Chen, Q. Sun, C. 2011. “Visual Detection of Melamine in Raw Milk by Label-Free Silver Nanoparticles.” *Food Control*. 23 : 191-197
 10. Chun Qu, J. ping Chang, Y. hua Ma, Y. min Zheng, J. hong Li, H. qian Ou, Q. Ren, C. guo Chen, X. 2012. “A Simple and Sensitive Colorimetric Method for the Determination of Propafenone by Silver Nanoparticles.” *Sensors and Actuators B: Chemical*. 174 : 133-139
 11. สุดเขต ไชโย. 2555. “การพัฒนาวีธีการวิเคราะห์ทองแดงและปรอทปริมาณน้อยโดยสทริปปิงโวลแทมเมตรี.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.
 12. อรฉัตร เลิศอิทธิพร. 2557. “การสังเคราะห์และประยุกต์ใช้ซิงซ์ไฟด์ควอนตัมดอทในการตรวจวัดปริมาณปรอท (II) โดยอาศัยเทคนิคซีเควนเซียลอินเจกชันและเทคนิคสเปกโทรฟลูออโรเมทรี.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
 13. ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์. ตำราเครื่องมือวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
 14. Hayat, A. Jahangir, T.M. Khuhawar, M.Y. Alamgir, M. Siddiqui, A.J. Musharraf, S.G. 2014. “Simultaneous HPLC Determination of Gamma Amino Butyric Acid (GABA) and Lysine in Selected Pakistani Rice Varieties by Pre-Column Derivatization with 2-Hydroxy naphthaldehyde.” *Journal of Cereal Science*. 60 : 356-360
 15. Horanni, R. Engelhardt, U.H. 2013. “Determination of Amino acid in White, Green, Black, Oolong, Pu-erh teas and Tea product.” *Journal of food Composition and Analysis*. 31 : 94-100
- เอกสารอ้างอิงสำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

16. Ling, J. Sang, Y. Huang, C.Z. 2008. "Visual Colorimetric Detection of Berberine Hydrochloride with Silver Nanoparticles." *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 47 : 860-864



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Original research article

Sequential injection for determination of gamma-aminobutyric acid based on its effect on second order light scattering of silver nanoparticles



Amornrassamee Jinnarak^a, Pattarapon Anantavichian^a, Apichai Intanin^a,
Suchada Fungladda^a, Nathawut Choengchan^{a,b}, Prapin Wilairat^{c,d},
Duangjai Nacapricha^{b,c}, Saowapak Teerasong^{a,b,*}

^a Department of Chemistry and Applied Analytical Chemistry Research Unit, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand

^b Flow Innovation-Research for Science and Technology Laboratories (FIRST Labs.), Thailand

^c Department of Chemistry and Center of Excellence for Innovation in Chemistry, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand

^d National Doping Control Centre, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand

ARTICLE INFO

Article history:

Received 3 February 2016

Received in revised form 3 June 2016

Accepted 30 June 2016

Available online 1 July 2016

Keywords:

Gamma-aminobutyric acid

Sequential injection

Silver nanoparticles

Second order scattering

In-line standard solution preparation

Dietary supplement

Green tea

Food analysis

ABSTRACT

An automated sequential injection (SI) with second order light scattering (SOS) detection for determination of gamma-aminobutyric acid (GABA) was developed. Quantitation is based on electrostatic interaction between GABA and citrate-capped silver nanoparticles (AgNPs). In acetate buffer at pH 3.8, the positively charged GABA induces the nanoparticles to aggregate. This results in a change of light scattering monitored using a spectrofluorometer. In this work, working standard solutions of GABA were prepared in-line by the SI system pumping appropriate volumes of a stock solution of GABA and acetate buffer into a holding coil. Solution of AgNPs was subsequently drawn into the coil. The reaction zone was then transferred to the spectrofluorometer, set with excitation and detection wavelengths at 300 and 600 nm, respectively. Under optimised condition, the SOS intensity was proportional to the concentration of GABA. As a result, a linear curve was obtained in the range of 100–400 mg L⁻¹ GABA, with a lower limit of detection of 39.6 mg L⁻¹. Good precision of analysis was achieved, with 0.6 and 3.3% relative standard deviation (RSD) for external calibration ($n = 5$) and standard addition ($n = 3$), respectively. The developed method was successfully applied for quantification of GABA in dietary supplements (2 samples) and samples of instant green tea (2 samples).

© 2016 Elsevier Inc. All rights reserved.

1. Introduction

Gamma-aminobutyric acid (GABA) is a non-protein amino acid found in certain foods, such as green tea and germinated brown rice, among others. GABA has been described as a 'health promoting substance'. It is claimed that it can diminish anxiety and promote relaxation (Abdou et al., 2006). There have been reports indicating that an intake of 80 mg GABA per day can significantly reduce blood pressure in humans (Matsubara et al., 2002). Continual use of GABA-enriched food is said to reduce

sleeplessness (Okada et al., 2000). It was recently suggested that GABA may promote long-term memory and improved brain function (Thanapreedawat et al., 2013). In view of these purported health benefits, GABA has received interest by the food industry. Presently, GABA is fortified in some food products and purified GABA sold as a dietary supplement.

Various techniques have been used for measuring GABA concentration. These include liquid chromatography with pre-column derivatization (Khuhawar and Rajper, 2003), spectrophotometry (Li et al., 2010; Tanpramoon and Choengchan, 2014) and enzymatic assay (Zhang and Bown, 1997). These techniques are based on UV–vis detection. However, determination of GABA in food samples can be challenging. Many foods are coloured which may significantly interfere with UV–vis detection. Sample pre-treatment is therefore necessary to remove color pigments before

* Corresponding author at: Department of Chemistry and Applied Analytical Chemistry Research Unit, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand.

E-mail address: saowapak.te@kmitl.ac.th (S. Teerasong).

analysis. Alternative methods for GABA detection have been proposed, such as electrochemical detection (Niwa et al., 1998) and acoustic impedance biosensor (Zhou and Muthuswamy, 2004).

Light scattering is a phenomenon that can be employed as an analytical technique. A common scattering mode is resonance Rayleigh scattering (RRS). In an RRS system, the wavelength of scattered light is the same as the wavelength of its excitation ($\lambda_{RRS} = \lambda_{Ex}$). In 1993, RRS was first utilised for detection of porphyrin on DNA (Pasternack et al., 1993) and was shown to be simple and sensitive. Later, an RRS-based method was developed for measurement of other species (Kong et al., 2014; Zhu et al., 2014). When a grating monochromator is employed there is also transmission of light at twice the wavelength of the selected wavelength. This is known as second-order diffraction or second-order light scattering (SOS), $\lambda_{SOS} = 2\lambda_{Ex}$ (Lakowicz, 2006; Sun, 2008). SOS was considered as interference in spectrofluorometric measurements of weakly fluorescing system. However in 1995, Liu's group demonstrated application of SOS for quantitative analysis (Liu et al., 1995a,b). It has been proposed as a novel analytical technique for trace analyses (Ding et al., 2005; Li et al., 2007).

Noble metal nanoparticles possess unique optical properties, such as surface plasmon resonance and strong light scattering. As a result, they are widely used in the fields of chemical and biomedical analysis as sensors. In recent years, silver nanoparticles (AgNPs) have been used as probes for determination of quinolones (Ding et al., 2006), ciprofloxacin (Zhao et al., 2008) and nitrate (Wang et al., 2009). These works employed measurement of second order scattering to measure analytes at the nanomolar level (Ding et al., 2006; Zhao et al., 2008).

Sequential injection (SI) (Ruzicka and Marshall, 1990) is one type of flow-based technique (Ruzicka and Hansen, 1988). Its essential feature is minimising of reagent consumption and waste production. The SI method is also superior in terms of robustness, reliability and high sample throughput. The method is amenable to computer control. Due to these advantages, the SI method has been used in a wide variety of applications, including environmental monitoring (Kaewwonglom and Jakmunee, 2015), quality control (Teerasong et al., 2010) and clinical diagnosis (Economou et al., 2007). Construction of calibration curves is necessary for quantitative analysis. Construction of the curve involves laborious preparation of a series of standard solutions. SI can use in-line preparation of standard solutions from a single stock standard solution (Marcelo et al., 2002). The approach is based on aspiration

of variable volumes of the standard solution and solvent into a holding coil of the system, under a programmable computer controller. In-line preparation of solutions by a SI system can be used for either external calibration or standard addition method (Fernandes et al., 2001; Marcelo et al., 2002), as well as for sample dilution (Themelis et al., 2004).

This work aimed to develop a sequential injection incorporated with second order scattering (SOS) detection for determination of GABA concentrations. The detection relies on the electrostatic attraction between positively charged GABA and negatively charged citrate-capped silver nanoparticles in acetate buffer in which the nanoparticles are readily aggregated. When the particle size increases, SOS intensity is enhanced. The concentration of GABA can be quantified by monitoring the relative change in SOS intensity using a spectrofluorometer. Unlike UV-vis detection, sample colour poses no difficulty in analyses using SOS detection. The proposed method was applied to quantitation of GABA in a food supplement and a green tea powder.

2. Materials and methods

2.1. Preparation of GABA solution

All solutions used in this work were prepared from analytical grade chemicals and deionized (DI) water (Zeneer Up 900, Human Corporation, Seoul, Korea).

A 0.5 M acetate buffer at pH of 3.8 was prepared from acetic acid (Carlo Erba, Rodano, MI) and sodium acetate trihydrate (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). A 50 mL volume of 0.5 M sodium acetate and 450 mL of 0.5 M acetic acid were mixed. The mixture was adjusted to pH 3.8 by addition of 1.0 M NaOH.

A stock solution of 500 mg L⁻¹ of GABA was obtained by weighing 0.05 g of gamma-aminobutyric acid ($\geq 99\%$) (Sigma-Aldrich) and dissolving in 100.0 mL of 0.5 M acetate buffer.

2.2. Synthesis of AgNP colloidal solution

The AgNP solution was prepared following a published method (Qu et al., 2012) with minor modification. A 0.64 mM AgNO₃ solution (Carlo Erba) was used as the precursor. 1% w/v NaBH₄ and 5 mM sodium citrate (both Sigma-Aldrich) were used as reducing and capping agents, respectively. A 1.0-mL aliquot of sodium citrate was added to 39.0 mL of AgNO₃ precursor. This solution was vigorously stirred for 20 min. Then 10.0 mL of NaBH₄ was added

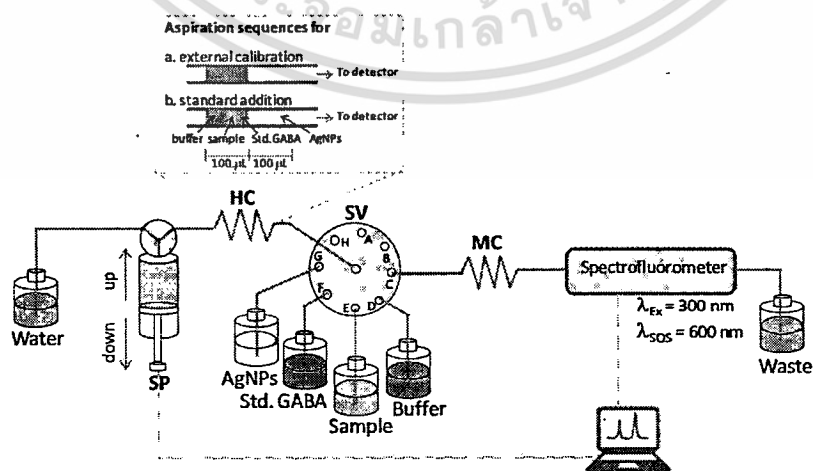


Fig. 1. A configuration of sequential injection with second order light scattering for determination of GABA. SP: syringe pump, HC: holding coil (1 mm i.d. \times 50 cm length), SV: eight-port selection valve, MC: mixing coil (1 mm i.d. \times 50 cm length) and D: spectrofluorometer ($\lambda_{Ex} = 300$ nm, $\lambda_{SOS} = 600$ nm).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

dropwise to the solution. Stirring was continued for an hour, after which it was allowed to stand for 2 h before use. The particles remained well dispersed in suspension for a month when stored in the dark at $\sim 4^\circ\text{C}$.

The concentration of the AgNP suspension, calculated based on the final concentration of AgNO_3 precursor, was 0.5 mM. This suspension was diluted to 0.4 mM prior to use in the SI method.

2.3. Sample preparation

The powder in one capsule (~ 0.75 g) of GABA supplement was weighed. Then 100.0 mL of DI water was added to dissolve the powder. The solution was filtered through Whatman No.1 filter paper and then a $0.22\ \mu\text{m}$ nylon membrane. Appropriate dilution (~ 50 times) was made by addition of buffer to obtain a GABA concentration within the calibration range. This sample was clear and colourless.

Green tea powder (3 g) was weighed and dissolved in 50.0 mL of hot DI water ($\sim 70^\circ\text{C}$). The solution was centrifuged at 6000 rpm for 20 min. The supernatant was filtered through filter paper and a $0.22\ \mu\text{m}$ nylon membrane. Buffer was used to dilute the sample (~ 1.5 times) before analysis. The green tea sample was pale yellow-green in appearance.

In this work, 2 dietary supplements and 2 samples of instant green tea were analyzed. Supplements were purchased from local drug stores. Green tea samples were products of Japan, which purchased from the Internet.

2.4. Assembly of the SI system

Fig. 1 illustrates the SI configuration. It comprises a syringe pump (SP) (Hamilton Company, Reno, NV) equipped with a 5-mL syringe and an eight-port selection valve (SV) (Hamilton Company). A holding coil (HC) made of polytetrafluoroethylene (PTFE) tubing (1.0 mm i.d. \times 50 cm) is connected to the pump and the centre port of the SV. Another 50 cm of the same size tubing is used as a mixing coil (MC). A Jasco FP-8200 spectrofluorometer (Jasco Corporation, Tokyo, Japan) with a Hellma 176.052QS flow-through cell (Hellma Analytics, Müllheim, Germany) is employed to detect the SOS. The excitation wavelength (λ_{Ex}) was set at 300 nm and the SOS intensity was recorded at 600 nm (λ_{SOS}).

2.5. Operation of the SI system

For determination of the GABA concentration in the supplement, an external calibration method was used. Working standard solutions were prepared in-line by loading different volumes of $500\ \text{mg L}^{-1}$ GABA, viz., 0, 20, 30, 40, 60 and 80 μL , into the HC (via port F of SV, see Fig. 1). Buffer solution was pumped into the HC coil (via port D) to adjust the final volume to 100 μL . The final GABA concentrations were 0, 100, 150, 200, 300 and $400\ \text{mg L}^{-1}$, respectively.

The green tea sample contained several compounds that can interfere with the analysis. To eliminate this problem, standard addition method was used. A 10 μL volume of the green tea sample was drawn into the HC (via port E). Various volumes of the stock GABA solution and buffer were aspirated into the coil to bring the total volume in the coil to 100 μL .

In this work a 100 μL volume of AgNP solution was used for the reaction. The flow rate for transferring solution (both aspiration and dispensing) was fixed at $20\ \mu\text{L s}^{-1}$. Table 1 shows the operation steps of the SI system for the standard addition method. The external calibration method employs the same steps as in Table 1, but omitting step 3 of the operation.

2.6. Comparison of methods

An HPLC method (Khuhawar and Rajper, 2003) was employed for comparison purpose. A 1.0 mL aliquot of GABA solution was added into 0.6 mL borax buffer (pH ~ 8) followed by addition of 1.0 mL of 2-hydroxynaphthaldehyde (0.3% w/v in methanol). The mixture was heated on a water bath at 80°C for 10 min. This solution was allowed to cool then adjusted to a final volume of 5 mL with methanol. Then, 5 μL of solution was injected into the HPLC system. HiQ silTM C18 column (4.6 mm i.d. \times 150 mm; KYA Technologies Corporation, Tokyo, Japan) was used as stationary phase and a mixture of methanol:water (62:38 v/v) was used as mobile phase. Flow rate of the system, controlled by Waters 515 pump (Waters Corporation, Milford, MA), was fixed at $1\ \text{mL min}^{-1}$. Column temperature was set at 25°C . The UV detector was set at 330 nm. In the HPLC method, a calibration curve in the range of 25–125 mg L^{-1} GABA was constructed.

The results obtained by the SI method were compared with results from the HPLC method using a paired *t*-test.

3. Results and discussion

3.1. Characteristics of AgNPs

The as-prepared AgNP suspension was yellow with maximum absorption at 390 nm, consistent with literature reports (Qu et al., 2012). Using transmission electron microscope (TEM) (Tecnai G² 20; FEI Company, Hillsboro, OR), the particles were found to be spherical with a mean diameter of 17 ± 4 nm.

3.2. Interaction of GABA and AgNPs

Positively charged compounds can induce negatively charged stabilised nanoparticles to agglomerate. This interaction has therefore been applied for detection of many positively charged species (Gao et al., 2014; Gobel et al., 2016; Ling et al., 2008). In the current study, GABA was prepared with positive charge by adjusting the pH of the solution. GABA possesses an isoelectric point of 7.30 (Greenstein and Winitz, 1961). If the pH of solution is

Table 1
Operational sequences of sequential injection for determination of GABA by standard addition method with in-line standard solution preparation.

Step	Direction of piston of SP	SV position	Action	Volume (μL)
1	down	–	aspirate deionised water into syringe pump	2200
2	down	D	aspirate buffer solution into holding coil	varied ^b
3	down	E	aspirate sample containing GABA into holding coil	10
4	down	F	aspirate $500\ \text{mg L}^{-1}$ of GABA standard solution into holding coil	varied ^a
5	down	G	aspirate AgNPs suspension into holding coil	100
6	up	C	dispense the mixture in holding coil towards detector	2400

^a The volumes of the GABA stock solution were aspirated into the holding coil as 0, 20, 30, 40, 60 and 80 μL , respectively.

^b The volume of buffer was varied to adjust the total volume of GABA solution in the holding coil to 100 μL .

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

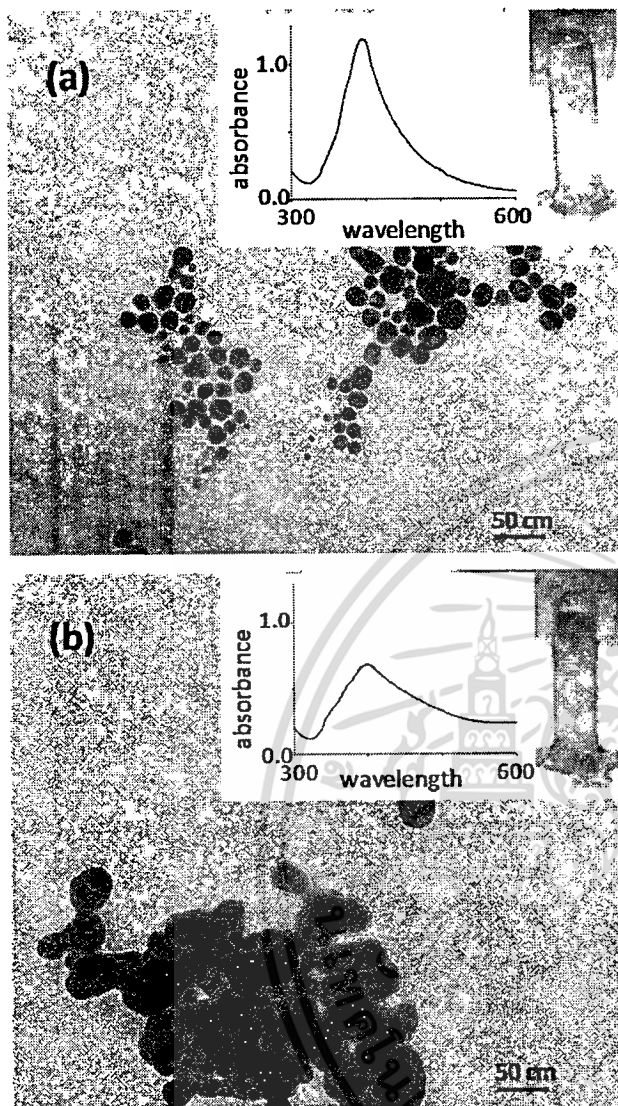


Fig. 2. TEM images of silver nanoparticles with (a) absence and (b) presence of 300 mgL^{-1} GABA in acetate buffer. Insets show the corresponding absorption spectra and color of the suspension. (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

lower than 7.30, GABA will be cationic. In this work, GABA was prepared in 0.5 M acetate buffer with a pH of 3.8. The aggregating reaction was observed when the pH-controlled GABA solution was pipetted into the AgNP suspension. The colour of the colloidal solution changed from yellow to blue-green (Fig. 2). The absorption band at 390 nm also noticeably decreased.

3.3. SOS characteristics

The SOS spectra of GABA, AgNPs and a mixture of GABA and AgNPs solutions were measured using a batch experiment. Excitation was set at 300 nm and the emission spectra of the solutions recorded over the wavelength 450–750 nm. The results (Fig. 3) showed that the SOS intensity at 600 nm of the GABA solution was very weak. The AgNP suspension showed a more intense SOS scattering. The SOS intensity improved significantly after addition of GABA. Based on this finding, it is possible to use

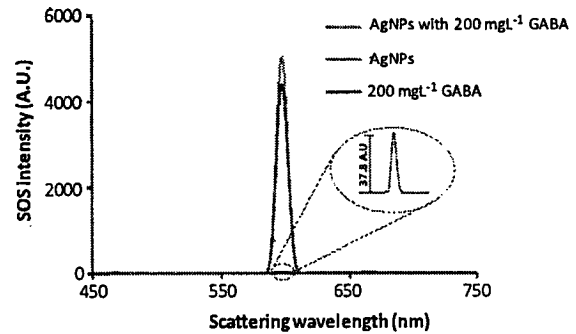


Fig. 3. Emission spectra of solutions of GABA, AgNPs, and mixture of GABA and AgNPs, with excitation wavelength at 300 nm.

the AgNPs as a probe for detection of GABA based on SOS measurements.

3.4. Optimisation of the SI method

A suitable wavelength for excitation was first examined. The excitation wavelength was varied from 225 to 350 nm. Intensity of the second order scattering (SOS) was measured at the corresponding double wavelength of excitation, i.e. $\lambda_{\text{SOS}} = 2\lambda_{\text{Ex}}$. It was found that the maximum SOS intensity was achieved when the excitation wavelength was 300 nm (Fig. 4a). Thus, 300 and 600 nm

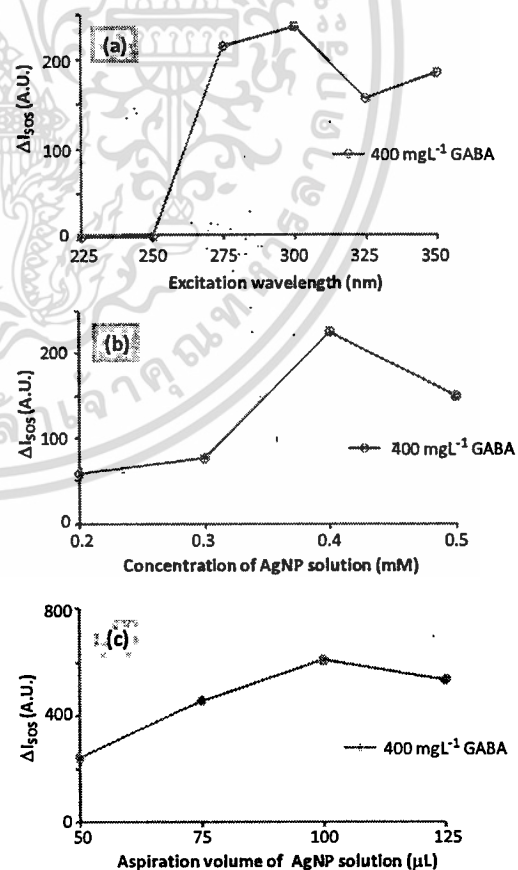


Fig. 4. Effects of (a) excitation wavelength, with emission intensity at $\lambda_{\text{SOS}} = 2\lambda_{\text{Ex}}$, (b) concentration and (c) volume of AgNP suspension on the SOS intensity ($\lambda_{\text{SOS}} = 600 \text{ nm}$). ΔI_{SOS} is the difference in the SOS intensity with and without GABA.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

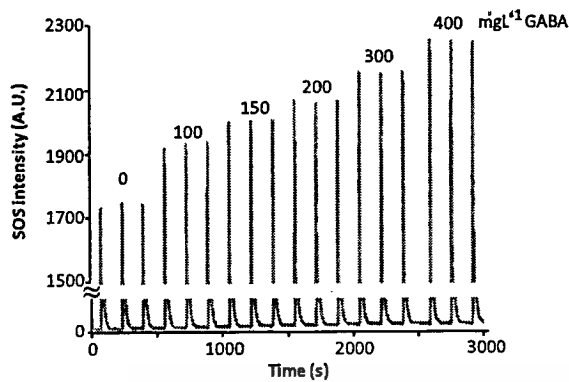


Fig. 5. Examples of signal profiles obtained by the sequential injection in Fig. 1 for external calibration.

were employed as the excitation and SOS detection wavelengths, respectively.

The next parameter investigated was the aspiration sequence. The following sequences were tested: (i) buffer-GABA-AgNPs, (ii) GABA-buffer-AgNPs and (iii) GABA-AgNPs-buffer. Sequence (i) gave the greatest reproducibility of the SOS signal. Hence, buffer-GABA-AgNPs was the aspiration sequence chosen for the final protocol.

The flow rate for dispensing the solution through the detector was studied. Flow rates of 10 and 20 $\mu\text{L s}^{-1}$ were compared. Detection signals using these two flow rates were not significantly different. Flow rates above 20 $\mu\text{L s}^{-1}$ were also tested. However, air bubbles sometimes were observed in the system at these higher flow rates and caused irreproducible signals. The flow rate of 20 $\mu\text{L s}^{-1}$ was selected since it leads to higher sample throughput.

Different lengths of mixing coil were examined, i.e., 50, 100 and 150 cm. Shorter mixing coils provided larger signal. Longer mixing coil may lead to more longitudinal dispersion of reaction zone thereby lowering the sensitivity. For this reason, the 50-cm length of coil was used for the final system.

Buffer concentration is a parameter that greatly affects the stability of nanoparticles. Therefore, the effect of the concentration of acetate buffer was investigated over the concentration range of 0.01–1.0 M. It was found that 0.01–0.1 M buffers were insufficient to induce AgNP aggregation even in the presence of GABA. Alternatively, when using 1.0 M buffer, clusters of particle readily formed without addition of GABA. In a high concentration of buffer, the particle surfaces are surrounded with large numbers of ionic species. These ions can decrease the electrostatic repulsion among particles, causing aggregation even without the target analyte (Trieu et al., 2014). In this work, the optimal buffer concentration for supporting AgNP aggregation in the presence of GABA was found to be 0.5 M. At this buffer concentration, the SOS intensity increased proportionally with the concentration of GABA.

Concentration and volume of the AgNP reagent could affect SOS intensity. Effects of these parameters were thus studied. Concentrations of AgNPs were varied from 0.2 to 0.5 mM. The SOS signal was progressively enhanced when AgNP concentration was increased from 0.2 to 0.4 mM (Fig. 4b). The degree of particle agglomeration is generally related to the number of particles in a unit volume (Ding et al., 2006; Guo et al., 2007; Zhao et al., 2008). With larger numbers of particles, agglomeration was easier to initiate. However, it was surprisingly observed that the SOS signal declined when AgNP concentration was increased to 0.5 mM. With a large excess of AgNPs, the ratio of analyte to particles is small. This makes it difficult to initiate particle agglomeration (Guo et al., 2007). Therefore, 0.4 mM AgNP solution was used for the final method. The volume of AgNP reagent loaded into the system was varied from 50 to 125 μL . In Fig. 4c, an AgNP solution of 100 μL gave the highest SOS intensity. Consequently this volume was adopted for the method.

3.5. System performance

Using the system in Fig. 1 under optimised conditions, well-defined signal profiles were achieved (Fig. 5). External calibration was performed and a calibration curve was constructed, plotting the change in SOS intensity (ΔI_{SOS}) against GABA concentration. A linear relationship was found for the concentration range of 100–400 mg L^{-1} GABA. The regression equation was $\Delta I_{\text{SOS}} = (0.931 \pm 0.035)[\text{GABA}, \text{mg L}^{-1}] + (93.7 \pm 9.08)$, with regression coefficient (r^2) = 0.995. The limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) were defined as 3 and 10 times the standard deviation of signal generated by 200 mg L^{-1} GABA (5 replicates). The LOD and LOQ were 39.6 and 132.0 mg L^{-1} GABA, respectively. Reproducibility of the method was evaluated from the relative standard deviation (RSD) (Skoog et al., 2004) at 200 mg L^{-1} GABA signal (5 replicates). A%RSD of 0.6% was obtained, indicating that the method provided good reproducibility of measurement. The throughput of analysis was found to be 25 h^{-1} for external calibration.

Standard addition method was carried out using the same concentration range of standard solution as for the external calibration. The r^2 of individual standard addition lines was >0.99. Acceptable precision of analysis was achieved (RSD = 3.3%, 3 replicates). A comparison of GABA detection methods is shown in Table 2.

3.6. Evaluation of GABA contents in samples

The developed method was applied to the determination of GABA in dietary supplements and instant green tea samples. In the supplements, GABA is a major component of the formulation and thus categorized as a low matrix sample. External calibration was employed for analysis. Green tea sample contains many ingredients and thus standard addition method was employed. The

Table 2
Comparison of GABA detection methods.

Technique	Detection	LOD	%RSD	Sample	Reference
HPLC	UV-vis absorption	0.56 mg L^{-1}	2.4	cerebral spinal fluid	Khuhawa and Rajper, 2003
HPLC	UV-vis absorption	–	1.57	rice wine	Liu et al., 2015c
spectrophotometry	UV-vis absorption	0.27 mg L^{-1}	<2	dietary supplement	Tanpramoon and Choengchan, 2014
biosensor	cyclic voltammetry	0.01 mg L^{-1}	–	cultured nerve cells	Niwa et al., 1998
biosensor	acoustic impedance	3.92 mg L^{-1}	–	–	Zhou and Muthuswamy, 2004
this work	scattering	39.6 mg L^{-1}	0.6, 3.3	dietary supplement, green tea	–

LOD = limit of detection.

RSD = relative standard deviation.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Table 3
Comparison of GABA contents determined by the developed sequential injection (SI) and HPLC methods.

Sample	Analytical approach	GABA (mg) per capsule or sachet		
		Labelled	SI method (n=3)	HPLC method (n=3)
Dietary supplement 1	External calibration	750	771.3 ± 7.1	781.5 ± 10.2
Dietary supplement 2	External calibration	750	753.4 ± 4.5	736.4 ± 2.5
Instant green tea 1	Standard addition	20	19.6 ± 6.9	21.1 ± 1.9
Instant green tea 2	Standard addition	20	25.1 ± 2.3	21.0 ± 2.4

n = number of replicates.

analytical results are summarised in Table 3. Good agreement between two sets of results was attained at a 95% confidence level ($t_{\text{observed}} = 0.96$, $t_{\text{critical}} = 4.30$). Recoveries were measured by spiking 100 mg L^{-1} GABA into samples prior to analysis. Satisfactory recoveries were obtained in the range of 93.1–97.5% for the supplements and 99.4–102.2% for green teas samples.

The advantage of this method is that it can be applied for quantification of GABA in coloured food samples. This SI method is rapid, automated and reliable. Moreover, the analysis consumed low volumes of sample and AgNP reagent, with reduced waste production.

4. Conclusions

A new sequential injection (SI) method with second order light scattering (SOS) was developed for evaluation of GABA in food products. The SI system allowed automated preparation of working standard solutions, which significantly reduced manual labour. In the reaction, GABA induced AgNPs to aggregate, causing an increase in the intensity of second order light scattering. The SOS intensity increased proportionally with the concentration of GABA. Use of light scattering detection has the potential to analyse GABA directly in coloured samples. The developed method is reproducible, rapid and sensitive. Therefore, it may be an alternative method for quality control in the manufacture of GABA in foods and beverages.

Acknowledgements

This work was financially supported by the Thailand Research Fund (MRG5980008) and the Faculty of Science, KMUTL.

References

- Abdou, A.M., Higashiguchi, H., Kim, M., Hatta, H., Yokogoshi, H., 2006. Relaxation and immunity enhancement effects of γ -aminobutyric acid (GABA) administration in humans. *Biofactors* 26, 201–208.
- Ding, F., Zhao, H., Chen, S., Ouyang, J., Jin, L., 2005. Study of interaction of nucleic acid with europium(III) and CTMAB and determination of nucleic acid at nanogram levels by the second-order scattering. *Anal. Chim. Acta* 536, 171–178.
- Ding, F., Zhao, H., Jin, L., Zheng, D., 2006. Study of the influence of silver nanoparticles on the second-order scattering and fluorescence of complexes of Tb(III) with quinolones and determination of the quinolones. *Anal. Chim. Acta* 566, 136–143.
- Economou, A., Tzanavaras, P.D., Themelis, D.G., 2007. Sequential-injection analysis: a useful tool for clinical and biochemical analysis. *Curr. Pharm. Anal.* 3, 249–261.
- Fernandes, R.N., Sales, M.G.F., Reis, B.F., Zagatto, E.A.G., Araújo, A.N., Montenegro, M. C.B.S.M., 2001. Multi-task flow system for potentiometric analysis: its application to the determination of vitamin B₆ in pharmaceuticals. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 25, 713–720.
- Gao, M., Lin, R., Li, L., Jiang, L., Ye, B., He, H., Qiu, L., 2014. Label-free silver nanoparticles for naked eye detection of entecavir. *Spectrochim. Acta Part A* 126, 178–183.
- Gobel, G., Lange, R., Hollidt, J.-M., Lisdat, F., 2016. Development of a fast and simple test system for the semiquantitative protein detection in cerebrospinal liquids based on gold nanoparticles. *Talanta* 146, 49–54.

- Greenstein, J.P., Winitz, M., 1961. *Chemistry of the Amino Acids*, vol. 2. John Wiley & Sons, New York.
- Guo, X., He, B., Sun, C., Zhao, Y., Huang, T., Liew, K., Liu, H., 2007. The second-order scattering of the interaction of Pd nanoparticles with protein and its analytical application. *Bull. Korean Chem. Soc.* 28, 1746–1750.
- Kaewwonglom, N., Jakmunee, J., 2015. Sequential injection system with multi-parameter analysis capability for water quality measurement. *Talanta* 144, 755–762.
- Kluhavar, M.Y., Rajper, A.D., 2003. Liquid chromatographic determination of γ -aminobutyric acid in cerebrospinal fluid using 2-hydroxynaphthaldehyde as derivatizing reagent. *J. Chromatogr. B* 788, 413–418.
- Kong, L., Liu, Z.F., Liu, S.P., 2014. Resonance Rayleigh scattering method for direct determination of polyacrylamide in water samples using basic phenothiazine dyes. *J. Anal. Chem.* 69, 149–156.
- Lakowicz, J.R., 2006. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. Springer Science Business Media, New York.
- Li, A., Zhao, H., Jin, L., 2007. Protein analysis with terbium(III) and sodium dodecyl sulphate by a second-order scattering technique. *Luminescence* 22, 9–14.
- Li, S.Y., Guo, Q.L., Yuan, W., Hou, Y.C., Du, L.M., 2010. Spectrophotometric study of the charge transfer complexation of some amino acid derivative as electron donors with 7,7,8,8-tetracyanoquinodimethane. *Bull. Chem. Soc. Ethiop.* 24, 21–30.
- Ling, J., Sang, Y., Huang, C.Z., 2008. Visual colorimetric detection of berberine hydrochloride with silver nanoparticles. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 47, 860–864.
- Liu, S., Liu, Z., Li, M., 1995a. Analytical application of double scattering spectra of scattering spectra of ion-association complex 1: selenium(IV)-I-rhodamine B system. *Acta Chim. Sin.* 53, 1178–1184.
- Liu, S., Liu, Z., Li, M., 1995b. Analytical application of double scattering spectra of scattering spectra of ion-association complex 2: mercury(II)-thiocyanate-basic triarylmethane dye systems. *Acta Chim. Sin.* 53, 1185–1192.
- Liu, T., Li, B., Zhou, Y., Chen, J., Tu, H., 2015. HPLC determination of γ -aminobutyric acid in Chinese rice wine using pre-column derivatization. *J. Inst. Brew.* 121, 163–166.
- Marcelo, S., Silva, P., Masini, J.C., 2002. Exploiting monosegmented flow analysis to perform in-line standard additions using a single stock standard solution in spectrophotometric sequential injection procedures. *Anal. Chim. Acta* 466, 345–352.
- Matsubara, F., Ueno, H., Tadano, K., Suyama, T., Imazumi, K., Suzuki, T., Magata, K., Kikuchi, N., Muneyuki, K., Nakamichi, N., Kumagai, H., Saruta, T., 2002. Effect of GABA supplementation on blood pressure and safety in adults with mild hypertension. *Jpn. Pharmacol. Ther.* 30, 963–972.
- Niwa, O., Kurita, R., Horiuchi, T., Torimitsu, K., 1998. Small-volume on-line sensor for continuous measurement of γ -aminobutyric acid. *Anal. Chem.* 70, 89–93.
- Okada, T., Sugishita, T., Murakami, T., Murai, H., Saikusa, T., Horino, T., Onoda, A., Kajimoto, O., Takahashi, R., Takahashi, T., 2000. Effect of the defatted rice germ enriched with GABA for sleeplessness, depression, autonomic disorder by oral administration. *J. Jpn. Soc. Food Sci. Technol.* 47, 596–603.
- Pasternack, R.F., Bustamante, C., Collings, P.J., Giannetto, A., Gibbs, E.J., 1993. Porphyrin assemblies on DNA as studied by a resonance light-scattering technique. *J. Am. Chem. Soc.* 115, 5393–5399.
- Qu, J.-c., Chang, Y.-p., Ma, Y.-h., Zheng, J.-m., Li, H.-h., Ou, Q.-q., Ren, C., Chen, X.-g., 2012. A simple and sensitive colorimetric method for the determination of propafenone by silver nanoprobe. *Sens. Actuators B* 174, 133–139.
- Ruzicka, J., Hansen, E.H., 1988. *Flow Injection Analysis*. John Wiley & Sons, New York.
- Ruzicka, J., Marshall, G.D., 1990. Sequential injection: a new concept for chemical sensors, process analysis and laboratory assays. *Anal. Chim. Acta* 273, 329–343.
- Skoog, D.A., West, D.M., Holler, F.J., Crouch, S.R., 2004. *Fundamentals of Analytical Chemistry*. Brooks/Cole-Thomson learning, California.
- Sun, D.-W., 2008. *Modern Techniques for Food Authentication*. Elsevier Inc, New York.
- Tanpramoon, P., Choengchan, N., 2014. Derivatization with subsequent colorimetric determination of GABA. *Proceedings of Pure and Applied Chemistry International conference* 84–86.
- Teerasong, S., Chan-Eam, S., Sereenonchai, K., Amornthammarong, N., Ratanawimarmwong, N., Nacapricha, D., 2010. A reagent-free SIA module for monitoring of sugar, color and dissolved CO₂ content in soft drinks. *Anal. Chim. Acta* 666, 47–53.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Thanapreedawat, P., Kobayashi, H., Inui, N., Sakamoto, K., Kim, M., Yoto, A., Yokogoshi, H., 2013. GABA affects novel object recognition memory and working memory in rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)* 59, 152–157.
- Themelis, D.G., Economou, A., Tsiomlektis, A., Tzanavaras, P.D., 2004. Direct determination of phosphate in urine by sequential-injection analysis with single on-line dilution-calibration method and photometric detection. *Anal. Biochem.* 330, 193–196.
- Trieu, K., Heider, E.C., Brooks, S.C., Barbosa Jr., F., Campiglia, A.D., 2014. Gold nanorods for surface Plasmon resonance detection of mercury(II) in flow injection analysis. *Talanta* 128, 196–202.
- Wang, C.C., Luconi, M.O., Masi, A.N., Fernández, L.P., 2009. Derivatized silver nanoparticles as sensor for ultra-trace nitrate determination based on light scattering phenomenon. *Talanta* 77, 1238–1243.
- Zhang, G., Bown, A.W., 1997. The rapid determination of γ -aminobutyric acid. *Phytochemistry* 44, 1007–1009.
- Zhao, H.C., Ding, F., Wang, X., Ju, H., Li, A., Jin, L.P., 2008. A study on silver nanoparticles-sensitized fluorescence and second order scattering of the complexes of Tb (III) with ciprofloxacin and its applications. *Spectrochim. Acta Part A* 70, 332–336.
- Zhou, A., Muthuswamy, J., 2004. Acoustic biosensor for monitoring antibody immobilization and neurotransmitter GABA in real-time. *Sens. Actuators B* 101, 8–19.
- Zhu, J., Qin, M., Liu, S., Liu, Z., Yang, J., Hu, X., 2014. Incorporation of flow injection analysis with dual-wavelength overlapping resonance Rayleigh scattering for rapid determination of malachite green and its metabolite in fish. *Spectrochim. Acta Part A* 130, 90–95.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แหล่งทุน: เงินรายได้
 ชื่อโครงการ: การตรวจวัดปริมาณแก๊สมายอโรโนไบโพรทริกแอซิด โดยอาศัยซีควเอนเซียอินเจเนชันร่วมกับการใช้อนุภาคนาโนซิลเวอร์เป็นตัวติดตาม.
 ชื่อหัวหน้าโครงการ: ผศ. ดร. เสาวภาคย์ ธีราทร

ว/ด/ป	รายการ	เลขที่อ้างอิง	รายการรับ - จ่าย			รายรับ ดอกเบี้ยรับ	งบบุคลากร ค่าจ้างชั่วคราว	รายจ่าย			งบลงทุน ค่าครุภัณฑ์	รวม รายจ่าย
			รับ	จ่าย	คงเหลือ			ค่าตอบแทน	ค่าวัสดุ	ค่าสาธารณูปโภค		
	งบประมาณที่ได้รับการอนุมัติ (ตามแผน)											
	จำนวนเงินที่ได้รับ (งวดที่ 1 = 85%)		42,500.00									
	จำนวนเงินที่ได้รับ (งวดที่ 2 = 15%)		7,500.00									
	จำนวนเงินที่ได้รับ (งวดที่ 3)											
	หัก ค่าใช้จ่าย (ครั้งที่ 1)			14,000.00					4,000.00			14,000.00
	ค่าใช้จ่าย (ครั้งที่ 2)			36,700.00					8,000.00			36,700.00
	งบประมาณคงเหลือ		50,000.00	50,700.00	700.00	0.00						
	รายละเอียดค่าใช้จ่าย											
ครั้งที่ 1												
2 ธ.ค. 58	ค่าสารเคมี	IV1603128							6,235.00			6,235.00
14 ก.พ. 59	ค่าสารเคมี	C-1602007							2,865.00			2,865.00
19 ม.ค. 59	วัสดุสำนักงาน	104-001202							900.00			900.00
9 ธ.ค. 58	จ้างเหมาวิเคราะห์ zetazizer	100418/59							4,000.00			4,000.00
	รวมครั้งที่ 1								4,000.00			14,000.00
ครั้งที่ 2												
3 เม.ย. 59	ค่าสารเคมี	IV1605690							7,230.00			7,230.00
28 เม.ย. 59	วัสดุวิทยาศาสตร์	231-5005596							9,210.00			9,210.00
16 พ.ค. 59	วัสดุวิทยาศาสตร์	IV5900007							8,690.00			8,690.00
14 พ.ค. 59	วัสดุสำนักงาน	101-004082							1,560.00			1,560.00
2 มิ.ย. 59	วัสดุสำนักงาน	101-006944							2,010.00			2,010.00
23 เม.ย. 59	ค่าจ้างเหมาวิเคราะห์ TEM	400938/59							8,000.00			8,000.00
	รวมครั้งที่ 2								8,000.00			36,700.00

ลงชื่อหัวหน้าโครงการเสาวภาคย์ ธีราทร

วันที่16 สิงหาคม 2559.....

ข้อมูลประวัติผู้วิจัย

ประวัติส่วนตัว

ชื่อ-สกุล: ผศ. ดร. เสาวภาคย์ อีราทรง

ตำแหน่งปัจจุบัน: อาจารย์ประจำภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ประวัติการศึกษา

ชื่อย่อปริญญา	สาขา	สถาบันที่จบ	ปีที่จบ
Ph. D.	Science and Technology Education	มหาวิทยาลัยมหิดล	2553
วท. บ.	เคมี	มหาวิทยาลัยขอนแก่น	2545

สาขาวิจัยที่มีความชำนาญพิเศษ:

Flow-based techniques, Nanoparticle sensor, Food and drug analysis

ทุนวิจัยที่เคยได้รับ

ปี พ.ศ.	ทุนการศึกษาและทุนวิจัย	สถาบันที่ให้
2559	ทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่	สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย
2558	ทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2556 คณะวิทยาศาสตร์ สจล.	คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
2556	ทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2555 คณะวิทยาศาสตร์ สจล.	คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
2555	ทุนพัฒนานักวิจัยใหม่ กองทุนวิจัยสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
2555	ทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่	สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์เผยแพร่ระดับนานาชาติ

- [1] Jinnarak A, Anantavichian P, Intanin A, Fungladda S, Choengchan N, Wilairat P, Nacapricha D, Teerasong S. Sequential injection for determination of gamma-aminobutyric acid based on its effect on second order light scattering of silver nanoparticles. *Journal of Food Composition and Analysis* 2016; 51: 69-75.
- [2] Trisaranakul W, Chompoosor A, Maneeprakorn W, Nacapricha D, Choengchan N, Teerasong S. A simple and rapid method based on anti-aggregation of silver nanoparticles for detection of poly(diallyldimethylammonium chloride) in tap water. *Analytical Sciences* 2016; 32: 769-773.
- [3] Jinnarak A, Teerasong S. A novel colorimetric method for detection of gamma-aminobutyric acid based on silver nanoparticles. *Sensors and Actuators, B: Chemical* 2016; 229: 315-320.
- [4] Teerasong S, Sani M, Numswat P, Martchoo R, Chompoosor A, Nacapricha D. A silver nanoparticle thin film modified glass substrate as a colourimetric sensor for hydrogen peroxide. *Journal of Experimental Nanoscience* 2015; 10: 1327-1335.
- [5] Teerasong S, Wattanasin P, Wilairat P, Nacapricha D. A simple method based on one phase measurement for determination of the octanol-water partition coefficient of drugs. *Chiang Mai Journal of Science* 2015; 42: 691-698.
- [6] Wattanasin P, Saetear P, Wilairat P, Nacapricha D, Teerasong S. Zone fluidics for measurement of octanol-water partition coefficient of drugs. *Analytica Chimica Acta* 2015; 860: 1-7.
- [7] Teerasong S, Sonsa-ard T, Vimolkajana C, Choengchan N, Chompoosor A, and Nacapricha D. Colorimetric Sensor Using Silver Nanoparticles for Determination of Hydrogen Peroxide Based on a Flow Injection System. *Journal of Nanoelectronics and Optoelectronics* 2013; 8: 446-449.
- [8] Mantim T, Saetear P, Teerasong S, Chan-Eam S, Sereenonchai K, Amornthammarong N, Ratanawimarnwong N, Wilairat P, Meesiri W, Uraisin K, and Nacapricha D. Reagent-free analytical flow methods for the soft drink industry: Efforts for environmentally friendly chemical analysis. *Pure and Applied Chemistry* 2012; 84: 2015-2025.
- [9] Chan-Eam S, Teerasong S, Damwan K, Nacapricha D, and Chaisuksant R. Sequential injection analysis with electrochemical detection as a tool for economic and rapid evaluation of total antioxidant capacity. *Talanta* 2011; 84: 1350-1354.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้