



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การพัฒนาไฟเบอร์ออปติกเซนเซอร์สำหรับเป็นอุปกรณ์อย่างง่าย
สำหรับตรวจวัดสารชีวโมเลกุล/สารเคมี

Development of Simple Fiber Optic Sensor for Detection of Biological/Chemical
substance

ประเภททุนทุนพัฒนาอาจารย์ใหม่รหัสโครงการ KREF015904

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ นางสาวนงติภรณ์ หวงกำแพง
ผู้ร่วมวิจัย นายเต็มศักดิ์ ศรีศิริรินทร์
นายอาโมทย์ สมบูรณ์แก้ว
นายรัฐศาสตร์ อัมฤทธิ

ได้รับการสนับสนุนเงินวิจัยจาก กองทุนวิจัย ประจำปี พ.ศ.2560

วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) การพัฒนาไฟเบอร์ออปติกเซนเซอร์สำหรับเป็นอุปกรณ์อย่างง่ายสำหรับตรวจวัดสารชีวโมเลกุล/สารเคมี

ชื่อโครงการ(ภาษาอังกฤษ) Development of Simple Fiber Optic Sensor for Detection of Biological/Chemical substance

แหล่งเงิน ทุนวิจัยสถาบัน

ประจำปีงบประมาณ 2560 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 479,020 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 2 ปี ตั้งแต่ 15 มกราคม 2560 ถึง 15 มกราคม 2562

หัวหน้าโครงการ

(ภาษาไทย) นงลักษณ์ หวงกำแหง

(ภาษาอังกฤษ) Nongluck Houngkamhang

หน่วยงาน วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง

หมายเลขโทรศัพท์ 086-349-5570 E-mail nongluck.hkh@gmail.com

ผู้ร่วมโครงการวิจัย

1. (ภาษาไทย) เต็มศักดิ์ ศรีศิริรินทร์

(ภาษาอังกฤษ) Toemsak Sriksirin

หน่วยงาน ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

หมายเลขโทรศัพท์ 081-611-1626 E-mail toemsak.sri@mahidol.ac.th

2. (ภาษาไทย) อาโมทย์ สมบูรณ์แก้ว

(ภาษาอังกฤษ) Armote Somboonkaew

หน่วยงาน ศูนย์เทคโนโลยีอิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์แห่งชาติ

หมายเลขโทรศัพท์ 02-564-6900 ต่อ 2106 E-mail armote@nectec.or.th

3. (ภาษาไทย) รัฐศาสตร์ อัมฤทธิ์

(ภาษาอังกฤษ) Ratthasart Amarit

หน่วยงาน ศูนย์เทคโนโลยีอิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์แห่งชาติ

หมายเลขโทรศัพท์ 02-564-6900 ต่อ 2101 E-mail Ratthasart.Amarit@nectec.or.th

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์หลักในการศึกษาและพัฒนาระบบตรวจวัดทางชีวภาพด้วยเส้นใยแก้วนำแสง ร่วมกับอนุภาคทองคำนาโน และอาศัยหลักการของปรากฏการณ์ localized Surface Plasmon Resonance (LSPR) ที่เกิดขึ้นในระบบ อนุภาคทองคำนาโนถูกสังเคราะห์โดยกระบวนการรีดักชัน ซึ่งได้อนุภาคขนาด 28 ± 2.47 20 ± 3.50 และ 10 ± 2.11 นาโนเมตร และถูกนำมาเคลือบบนชั้นแกนกลางของไฟเบอร์ที่เป็นแก้ว โดยการเชื่อมด้วยชั้น Self-Assembly-Monolayer (SAM) ที่เตรียมด้วย สารละลาย (3-Aminopropyl)triethoxysilane: APTES โดยทำการเปรียบเทียบระยะห่างของการปลอกชั้นเคลือบที่ 1 และ 2 เซนติเมตร ซึ่งผลของเงื่อนไขการปลอกที่ 2 เซนติเมตร มีค่าการตอบสนองที่สูงกว่าเงื่อนไข 1 เซนติเมตร 10 เท่า และทำการเปรียบเทียบขนาดของอนุภาคทองคำนาโน ที่ใช้ในการเคลือบไฟเบอร์ พบว่าค่าการตอบสนองของสัญญาณเพิ่มสูงเมื่ออนุภาคทองคำนาโนมีขนาดเล็กลง ซึ่งพบว่าสัญญาณเพิ่มขึ้นถึง 10 เท่า และ 4 เท่า เมื่อเทียบขนาดเล็กที่สุด กับขนาดใหญ่ที่สุด และรองลงมา ตามลำดับ โดยเซนเซอร์ที่เตรียมขึ้นมีความไวอยู่ที่ 4×10^6 A.U./RIU ด้วยการวัดใน สารละลาย กลีเซอรอลในช่วง 0.5 ถึง 2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีช่วงค่าดัชนีหักเหที่เพิ่มจาก 3.7×10^{-4} ถึง 2.9×10^{-3} และเซนเซอร์นี้มีความสามารถในการวัดซ้ำที่ดี นอกจากนี้มีการประยุกต์ใช้ไฟเบอร์ออปติกที่เคลือบอนุภาคทองในการทดสอบกับคูโปรตีนตัวอย่างแอนติบอดีของหมูโลहितเอ (A) และเซลล์เม็ดเลือดแดงจากหมูเลือดเอ บี และโอ ผลที่ได้พบว่าเซนเซอร์มีความจำเพาะเจาะจงกับแอนติเจนของหมูเลือด A โดยไม่พบการตอบสนองต่อแอนติเจนของหมูเลือดอื่นๆ และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารตัวอย่างเลือดทำให้ค่าสัญญาณเพิ่มขึ้น และสามารถใช้วัดซ้ำได้หลายครั้งโดยสัญญาณไม่ลดลง ดังนั้นผลของงานวิจัยนี้จึงเป็นแนวทางและสร้างโอกาสในการพัฒนาต่อยอดระบบตรวจวัดเชิงแสงไฟเบอร์ ออปติกเพื่อประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์หรือด้านอื่นๆ ต่อไปในอนาคต

คำสำคัญ ไฟเบอร์ออปติก, โบโอะเซนเซอร์, อนุภาคทองคำนาโน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ABSTRACT

This project aims to study and develop fiber-optic biosensors with gold nanoparticles (GNPs), based on a principle of localized surface plasmon resonance (LSPR). GNPs were synthesized via reduction method, 28 ± 2.47 , 20 ± 3.50 and 10 ± 2.11 nanometer (nm) for diameter. They were coated on a glass core fiber through a self-assembly-monolayer (SAM), (3-Aminopropyl)triethoxysilane: APTES solution. By a comparison between its cladding ranges, 1 and 2 centimeter, the results showed that uncladded range about 2 centimeter offered a rich-higher sensitivity rather than the other about 10 times. An accomplishment of construction GNPs fiber optic biosensors (GNPs/FOB) showed a higher sensitivity, 10 and 4 fold, when compared the smallest size to the bigger and the greatest size, respectively. The smallest diameter offered the highest sensitivity, 4×10^6 A.U./RIU, by measuring in a range of concentration of glycerol in PBS, from 0.5% to 2%, in other words, that is a refractive index change from 3.7×10^{-4} to 2.9×10^{-3} . This sensor also demonstrated a superior stability and repeatability. Additionally, GNPs/FOB was used as a detection for investigate an interaction of model sample; anti-A and red blood cell (RBCs) A, B and O. The results found that the sensor has specificity to RBCs-A without unspecific binding signal from other blood samples. The signal increases while the concentration of blood samples was increasing and this sensor can show a good repeatability with no drop of signal. These results provided a great encouragement with a high rate of probability to develop a fiber optic biosensor to be a higher-potential technique in medical application and other fields.

Keywords fiber optic, biosensor, gold nanoparticle

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยการศึกษาและพัฒนาไฟเบอร์ออปติกไบโอเซนเซอร์โดยใช้อนุภาคทองคำนาโน และการประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดค่าปฏิกิริยาแอนติเจน-แอนติบอดีสำเร็จจุลวงด้วยดี ซึ่งการวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง จากแหล่งทุน ทุนพัฒนาอาจารย์ใหม่ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560

ทางผู้วิจัยขอขอบคุณ นายสิทธิพันธ์ เจริญสุวรรณ นักศึกษา ชั้นปี 4 วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง สำหรับการทำการทดลองต่างๆ ในงานวิจัยนี้



นางลักษณ์ หวงกำแหง
 เต็มศักดิ์ ศรีศรีรินทร์
 อาโมทย์ สมบูรณ์แก้ว
 รัฐศาสตร์ อัมฤทธิ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	i
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ii
กิตติกรรมประกาศ	iii
สารบัญ	iv
สารบัญภาพ	vi
สารบัญตาราง	ix
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	4
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	4
1.4 วิธีดำเนินการวิจัย	5
1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย	8
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	8
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	9
2.2 การทบทวนวรรณกรรม	17
บทที่ 3 วิธีการทดลอง	
3.1 การสังเคราะห์อนุภาคทองคำนาโน (Gold nanoparticles: GNPs)	23
3.2 การเตรียมสารเซลล์ไฟอสเคมีโมโนเลเยอร์	23
3.3 การเตรียมอนุภาคทองคำนาโนไฟเบอร์ออปติกไบโอเซนเซอร์ (GNPs/FOB)	24
3.4 การทดสอบประสิทธิภาพไฟเบอร์ออปติกในสารละลายกลีเซอรอล	25
3.5 การทดสอบประสิทธิภาพไฟเบอร์ออปติกเซนเซอร์สำหรับตรวจวัดสาร ตัวอย่างโปรตีน	25
3.6 การสังเคราะห์อนุภาคทองคำนาโนแบบแท่ง	28
3.7 การเคลือบอนุภาคทองคำนาโนแบบแท่งลงบนพื้นผิวไฟเบอร์	29
3.8 การทดสอบ GNPs/FOB ในสารละลายที่มีค่าดัชนีหักเหที่แตกต่างกัน	29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลการทดลอง	
4.1 การติดตั้งและสอบเทียบเครื่อง Spectrometer ในระบบ	30
4.2 ลักษณะและสมบัติทางแสงของอนุภาคทองคำนาโน (GNPs)	32
4.3 การตรึง GNPs บนผิวไฟเบอร์ออปติก และการทดลองผลของระยะ ความยาวในการปลอกไฟเบอร์ออปติกชั้นนอกออก	34
4.4 ลักษณะและสมบัติการตรวจวัดของเซนเซอร์ Ab-A/GNPs/FOB	40
4.5 การสังเคราะห์อนุภาคทองคำนาโนแบบแท่ง (Gold Nanorods; GNRs)	51
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	
5.1 สรุปผลการทดลอง	57
5.2 ข้อเสนอแนะ	58
บทที่ 6 สรุปผลผลิตงานวิจัย	59
เอกสารอ้างอิง	60
ภาคผนวก	64
ผลงานตีพิมพ์ 1 ฉบับ	
สรุปค่าใช้จ่ายการดำเนินงานโครงการวิจัย	
ประวัตินักวิจัย	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญญภาพ

	หน้า
รูปที่ 1.1 แสดงแสงที่ผ่านเข้าออกในวัตถุตัวอย่างเป็นระยะทาง L	3
รูปที่ 1.2 จำแนกภาพรวมของโครงการและระยะเวลาในการดำเนินการในภาพรวม	5
รูปที่ 2.1 ก) ไฟเบอร์ออปติก และ ข) องค์ประกอบของไฟเบอร์ออปติก	9
รูปที่ 2.2 (ก) แสดงการสะท้อนกลับของแสง, (ข) เส้นทางของแสงในไฟเบอร์ออปติก	10
รูปที่ 2.3 การสะท้อนกลับหมดของแสง (total internal reflection ; TIR) ที่ผิวหน้ารอยต่อระหว่างชั้น n_1 และ n_2 โดย $n_1 > n_2$ เมื่อมุมตกกระทบมากกว่ามุมวิกฤติ θ_c (A) และ แอมพลิจูดของสนามไฟฟ้าทางด้าน core และ cladding โดยด้าน cladding จะมีสนามไฟฟ้า evanescence wave ที่มีค่าลดลงแบบเอกโพเนนเชียล (B)	11
รูปที่ 2.4 แสดงรูปแบบการเดินทางของแสงผ่านไฟเบอร์ออปติก และการเกิด evanescence wave รวมถึง penetration depth ที่เกิดขึ้นด้วยมุมตกกระทบ θ	12
รูปที่ 2.5 โครงสร้างเทคนิค SPR	13
รูปที่ 2.6 ก) รูปแบบการเกิด LSPR ของ GNPs ข) สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ GNPs ค) รูปแบบการเกิด LSPR ของ GNRs ทั้งสองแกน ง) สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ GNRs	15
รูปที่ 2.7 สารละลายอนุภาคแท่งทองคำนาโนที่ค่า aspect ratio ต่างๆ แสดงถึงสีของสารละลายที่ต่างกัน	15
รูปที่ 2.8 (ก) การเกิด Red shift ของสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ GNPs เมื่อขนาดของ GNPs ใหญ่ขึ้น และ (ข) แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงสูงที่สุดที่ขนาดต่างๆ ของ GNPs	16
รูปที่ 3.1 แสดงขั้นตอนการเตรียมสารละลาย APTES	23
รูปที่ 3.2 แผนผังแสดงขั้นตอนการเตรียมไฟเบอร์และการสร้างชั้น self assemble monolayer (SAM) ด้วย APTES และต่อด้วยการเคลือบอนุภาคทองคำนาโนบนไฟเบอร์	24
รูปที่ 3.3 ขั้นตอนการเตรียมอนุภาคทองคำนาโนไฟเบอร์ออปติกไบโอเซนเซอร์ (GNPs/FOB)	25
รูปที่ 3.4 (ก) โครงสร้างของ Ab/GNPs/FOB (ข) โครงสร้างของ Ab/GNPs/FOB เมื่อมีแอนติเจนในระบบ	26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญญภาพ (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 3.5 ระบบการตรวจวัด GNP/FOB	27
รูปที่ 3.6 แสดงขั้นตอนการวัดโปรตีนหมู่เลือด	28
รูปที่ 4.1 การดูดกลืนแสงเปรียบเทียบระบบในงานวิจัยนี้ กับ เครื่อง UV-visible spectrometer มาตรฐาน โดย a) กับ b) เป็นการวัดสารละลาย GNP และ GNRs จากเครื่อง mini spectrometer และ c) กับ d) เป็นการวัดสารละลาย GNP และ GNRs จากเครื่อง UV-visible spectrometer มาตรฐาน	31
รูปที่ 4.2 สีของอนุภาคทองคำนาโนที่สังเคราะห์ได้ เมื่อใช้ปริมาณสารละลาย 1%TSC เป็น 3 (ก), 1.8 (ข), 1 (ค), และ 0.5 มิลลิลิตร (ง) ต่อสารละลาย 0.01% HAuCl ₄ 50 มิลลิลิตร	33
รูปที่ 4.3 การดูดกลืนแสงของอนุภาคทองคำนาโนที่สังเคราะห์ได้ เมื่อใช้ปริมาณสารละลาย 1%TSC เป็น 3 (สีส้ม), 1.8 (สีเทา), 1 (สีเหลือง) และ 0.5 (ฟ้า) มิลลิลิตร ต่อสารละลาย 0.01% HAuCl ₄ 50 มิลลิลิตร	33
รูปที่ 4.4 เส้นไฟเบอร์ออปติกที่ตรึงอนุภาคทองคำนาโน และไม่ได้ตรึงอนุภาคทองคำนาโน	34
รูปที่ 4.5 ภาพจาก Optical microscope แสดงพื้นผิว core ของ fiber optic (ก) core ไม่มีการตรึงGNPs (ข) core ยาว 1 เซนติเมตร ที่มีการตรึง GNPs (ค) core ยาว 2 เซนติเมตรที่มีการตรึง GNPs	35
รูปที่ 4.6 แสดงค่าการทะลุผ่าน (Transmittance : T) ของแสงเข้าสู่ตัวรับสัญญาณ (ก) core ที่ไม่มีการตรึงGNPs (ข) core ยาว 1 เซนติเมตร ที่มีการตรึง GNPs (ค) core ยาว 2 เซนติเมตร ที่มีการตรึง GNPs ที่วัดในสารละลายกลีเซอรอลที่มีความเข้มข้นต่างๆ	36
รูปที่ 4.7 การเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของสัญญาณต่อการเปลี่ยนแปลงดัชนีหักเห และ ค่า sensitivity ของเซนเซอร์ (ก) core ไม่มีการตรึงGNPs (ข) core ยาว 1 เซนติเมตร ที่มีการตรึง GNPs (ค) core ยาว 2 เซนติเมตรที่มีการตรึง GNPs ใน inset กราฟคือ การขยายให้เห็นการเปลี่ยนแปลงสัญญาณในช่วงต้นของค่าดัชนีหักเหของสาร	39
รูปที่ 4.8 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของหมู่เลือด (สีฟ้า) A (สีส้ม) B (สีเทา) O	40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญญภาพ (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 4.9 ค่าสัดส่วน Transmittance เทียบกับ PBS เป็นตัวอ้างอิงในขั้นตอนการวัด Ag ของหมู่เลือด A O และ B ตามลำดับ (ก) GNPs/FOB (control) (ข) Ab-A/GNPs/FOB	42
รูปที่ 4.10 การเปลี่ยนแปลงค่า %Transmittance เปรียบเทียบ PBS ก่อนและหลังตรวจวัด ในแต่ละหมู่เลือด (ก) GNPs/FOB ที่ความยาวคลื่น 541.27 นาโนเมตร (ข) GNPs/FOB ที่ความยาวคลื่น 574.74±0.91 นาโนเมตร (ค) Ab-A/GNPs/FOB ที่ความยาวคลื่น 541.27 นาโนเมตร และ (ง) Ab-A/ GNPs/FOB ที่ความยาวคลื่น 574.74±0.91 นาโนเมตร	44
รูปที่ 4.11 กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณค่าแสงส่องผ่านของสารตัวอย่างเลือดหมู่เอ บี และ โอ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ก) ไฟเบอร์ที่ไม่ได้ตรึงพื้นผิวด้วยแอนติบอดี (GNPs/FOB) และ ข) ไฟเบอร์ที่ตรึงด้วยแอนติบอดีเอ (AbA/GNPs/FOB)	47
รูปที่ 4.12 การเปลี่ยนแปลงค่าความเข้มของแสงส่องผ่านเมื่อตรวจวัดในหมู่เลือด ABO (ก) Ab-A/GNPs/FOB (ข) GNPs/FOB	49
รูปที่ 4.13 Repeatability และ Stability ของ Ab-A/GNPs/FOB ที่ความเข้มข้นสารตัวอย่าง เลือดหมู่เอ ที่ความเข้มข้นต่างๆ (สีฟ้า) 3% (สีเขียว) 5% และ (สีแดง) 10% v/v	50
รูปที่ 4.14 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองคำในทองแบบแท่งที่สังเคราะห์ขึ้น โดยใช้สารละลาย 0.02 โมลาร์ AgNO ₃ ปริมาตรแตกต่างกันที่ 120, 200 และ 240 ไมโครลิตร	52
รูปที่ 4.15 แสดงภาพการเกิดปรากฏการณ์ LSPR ในด้าน longitudinal และ transverse surface ของอนุภาคทองคำโนแบบแท่ง	52
รูปที่ 4.16 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองคำโนแบบแท่งที่สังเคราะห์ขึ้น	54
รูปที่ 4.17 แสดงภาพไฟเบอร์ก่อน (เส้นบน) และ หลัง (เส้นล่าง) จากเคลือบด้วยอนุภาคทองคำโน แบบแท่ง	54
รูปที่ 4.18 กราฟสัญญาณการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงเมื่อนำไฟเบอร์ออปติคัลวัดใน สารละลายกลีเซอรอลที่มีค่าดัชนีหักเหต่างๆ โดยด้านซ้ายคือสัญญาณการเปลี่ยนแปลง ที่เกิดขึ้นที่ความยาวคลื่นตำแหน่ง 526 นาโนเมตร และกราฟขวาคือสัญญาณการเปลี่ยนแปลง ที่เกิดขึ้นที่ความยาวคลื่นตำแหน่ง 659 นาโนเมตร	55

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้งานไฟเบอร์ออปติกเซนเซอร์	19
ตารางที่ 2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้งานไฟเบอร์ออปติกเซนเซอร์ร่วมกับอนุภาคทองคำโน	22
ตารางที่ 4.1 เปรียบเทียบความยาวคลื่นที่ดูดกลืนของสารละลาย GNPs และ GNRs ระหว่างระบบในงานวิจัย และเครื่อง UV-visible spectroscopy	31
ตารางที่ 4.2 ขนาดของอนุภาคทองคำโนที่ความเข้มข้น 1% TSC ในปริมาตรต่างๆ	32
ตารางที่ 4.3 การดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) ของ GNPs เจือไนซ์ต่างๆ	34
ตารางที่ 4.4 ค่าดัชนีหักเหและการเปลี่ยนแปลงของค่าดัชนีหักเหของสารละลายกลีเซอรอลใน PBS ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเทียบกับดัชนีหักเหของ PBS	37
ตารางที่ 4.5 ความยาวคลื่นแสงที่ดูดกลืน เมื่อวัดในสารละลายเลือดตัวอย่าง	41
ตารางที่ 4.6 แสดงค่าสัญญาณการเปลี่ยนแปลงแสงส่องผ่านที่วัดได้จากการวัดสารตัวอย่างเลือดหมูเอ บี และ โอ ซ้ำ 3 ครั้ง	51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การพัฒนาทางด้านการแพทย์ ทั้งด้วยารักษาโรคหรือแม้กระทั่งการตรวจสอบหรือระบุโอกาสความเป็นไปได้ของโรคต่างๆ จึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง นอกเหนือจากวิธีขั้นตอนการตรวจวัดโรคหรือสุขภาพในรูปแบบที่ใช้กันอยู่อย่างยาวนาน เช่น การตรวจวัดเซลล์มะเร็งจากการเก็บตัวอย่างเนื้อมาตรวจสอบทางชีวเคมีในห้องปฏิบัติการหรือการตรวจสอบปริมาณสารในร่างกาย เช่น กลูโคส ยูเรีย โลหะหนัก หรือ คลอเรสเตอรอลจากการเจาะเลือด และการวิเคราะห์หิวฉัยบางโรค เช่น โรคมะเร็งปากมดลูก ต้องทำในห้องปฏิบัติการเท่านั้น และยังไปกว่านั้นค่าใช้จ่ายในการวินิจฉัยที่ค่อนข้างสูง ทำให้หลายคนไม่มีโอกาสเข้าถึงการใช้เทคโนโลยีเหล่านี้ ทำให้โอกาสที่จะมีคนเสียชีวิตจากโรคเหล่านี้เพิ่มขึ้นในหลายๆ ประเทศ ด้วยเหตุนี้นักวิจัยจึงได้สร้างสรรค์และพัฒนาอุปกรณ์และเทคโนโลยีในการตรวจวินิจฉัยโรคเหล่านี้ เพื่อเป็นการลดขนาดของอุปกรณ์ ให้สามารถพกพาได้สะดวกยิ่งขึ้น และมีราคาที่ย่อมเยาเพิ่มโอกาสการเข้าถึงเทคโนโลยีได้มากยิ่งขึ้น เป็นการตอบโจทยของปัญหาของการวินิจฉัยในปัจจุบัน

ไบโอเซนเซอร์ (biosensor) เป็นสาขาเทคโนโลยีที่รวมรวบองค์ความรู้หลายแขนงเพื่อสร้างสรรค์หรือพัฒนาการตรวจวัดทางชีวภาพ เช่น การตรวจจับสัญญาณคู่แอนติบอดีและแอนติเจน การตรวจสอบสารหรือโมเลกุลผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาเคมีหรือชีววิทยา และการเข้าคู่กันของคู่เบสของดีเอ็นเอ เป็นต้น เพื่อจุดมุ่งหมายในการตอบโจทยปัญหาของการตรวจวัดสารชีวภาพในปัจจุบัน การพัฒนาประสิทธิภาพของไบโอเซนเซอร์ ให้สามารถตรวจวัดสารเป้าหมายได้ด้วยความเข้มข้นที่ต่ำด้วยความแม่นยำที่สูงนั้น จำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาและพัฒนาเซนเซอร์ทางด้าน

- ความไวในการตอบสนองต่อสัญญาณ (sensitivity),
- ความจำเพาะต่อการตอบสนอง (selectivity),
- การตอบสนองต่อความเข้มข้นที่น้อยมาก (limit of detection :LOD),
- การตอบสนองเชิงเส้นต่อความเข้มข้นต่างๆ (calibration curve),
- ระยะเวลาในการตรวจวัดสัญญาณ (response time) และ
- อายุการใช้งานที่ยาวนาน (life time)

ไบโอเซนเซอร์อาศัยสารชีวโมเลกุลมาเป็นตัวตรวจจับ (bioreceptor) สารชีวโมเลกุลเป้าหมาย (analyte) เพื่อให้ได้สัญญาณออกมาซึ่งจะมีตัวแปลงสัญญาณ (transducer) เป็นตัวตรวจวัดค่าการเปลี่ยนแปลงในเชิงไฟฟ้า, แสง, หรือสี ซึ่งการตรวจจับเชิงไฟฟ้าเป็นวิธีหนึ่งที่ได้รับคามนิยมอย่างมาก ดังหลายๆ งานวิจัยเช่น อีสเฟต (ion-sensitive field effect transistor : ISFET) ในการตรวจวัดปริมาณยูเรีย และเครื่องมือตรวจวัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือด (enzyme based-biosensors detecting blood glucose) นอกจากนี้การตรวจวัดด้วยเทคนิคเชิงแสง (optical Biosensors) ก็เป็นที่นิยมอย่างมากเช่นกัน จากที่กล่าวมานี้จะเห็นว่าเครื่องมือหรืออุปกรณ์การวัดเชิงปริมาณและคุณภาพมีความสำคัญในงานทางด้านวิทยาศาสตร์ชีวภาพ (life science) ที่มีจุดประสงค์ในการตรวจวัดหรือการจำแนกสาร รวมทั้งการตรวจวัดความเข้มข้นของสาร ไม่ว่าจะเป็นสารเคมีหรือสารชีวโมเลกุล อาทิเช่น โปรตีน แอนติเจน แอนติบอดี ในอดีตที่ผ่านมามีเทคนิคต่างๆ ที่สามารถใช้ตรวจวัดความเข้มข้นของโปรตีนได้ เช่น วิธี colorimetric (1) ซึ่งยังมีข้อจำกัดเรื่องความไว (sensitivity) ความถูกต้อง (accuracy) และการทำซ้ำ (reproducibility) เป็นต้น (2) งานวิจัยในปัจจุบันจึงมุ่งเน้นที่จะพัฒนาเครื่องมือหรือรูปแบบ (platform) การตรวจจับสารชีวโมเลกุลที่สามารถตรวจวัดโดยมีความถูกต้อง ความไวสูง สามารถพกพาได้ และมีราคาถูก

ไฟเบอร์ออปติกเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในงานเซนเซอร์ได้ เนื่องจากไฟเบอร์ออปติกเป็นอุปกรณ์สื่อสารทางแสง ซึ่งมีข้อดีเรื่องการส่งสัญญาณได้ในระยะไกล มีความไวในการส่งสัญญาณ และมีขนาดเล็ก ราคาไม่แพง สามารถพัฒนาให้เป็นอุปกรณ์พกพาได้ จึงนับว่ามีประโยชน์อย่างมาก และสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในงานทางไบโอเซนเซอร์เพื่อตรวจวัดสารต่างๆ (3) ในช่วงหลายปีที่ผ่านมา ไฟเบอร์ออปติกเข้ามามีบทบาทและความสำคัญในเรื่องของเทคโนโลยีเซนเซอร์มากขึ้น เนื่องจากราคาที่ถูกลงและความก้าวหน้าของระบบควบคุมและกำเนิดแสงมีราคาที่ถูกลงเป็นอย่างมาก ทำให้มีการพัฒนาอุปกรณ์สำหรับตรวจวัดไม่ว่าจะเป็นทางด้านทางการแพทย์ เภสัชกรรม หรือภาคอุตสาหกรรม ไฟเบอร์ออปติกทำงานโดยการส่งผ่านของแสงซึ่งอาศัยหลักการของการสะท้อนกลับหมดของแสงภายในสายไฟเบอร์ เมื่อนำมาประยุกต์ใช้ในงานไบโอเซนเซอร์ ไฟเบอร์ออปติกจึงทำหน้าที่เป็นตัวแปลงสัญญาณ (transducer) ที่เกิดขึ้น ซึ่งโดยปกติแล้วสัญญาณที่วัดได้จะเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของสารเคมีหรือสารชีวเคมีที่เกิดขึ้นจากการทำปฏิกิริยาของสารชีวโมเลกุลบนเซนเซอร์ ไฟเบอร์ออปติกไบโอเซนเซอร์สามารถใช้ร่วมกับเทคนิคทางแสงได้หลายแบบ เช่น การวัดการดูดกลืนแสง การวัดสัญญาณพลาสมอนเรสแนนซ์ หรือคลื่นผิวพลาสมอน (surface Plasmon resonance; SPR) ที่เกิดบริเวณรอยต่อระหว่างชั้นแกนไฟเบอร์ (fiber core) และ ชั้นแคลดดิง (cladding) ที่เคลือบแกนไฟเบอร์ ซึ่งค่าดัชนีหักเหของทั้งสองชั้นจะมีค่าต่างกันเล็กน้อย โดยค่าดัชนีหักเหของชั้นแกนไฟเบอร์จะมีค่ามากกว่าชั้นแคลดดิง ทำให้เกิดการสะท้อนกลับของแสงภายในสายไฟเบอร์ส่งผลให้มีการส่งสัญญาณผ่านสายไฟเบอร์ได้ นอกจากนั้นสามารถที่จะเพิ่มประสิทธิภาพการตรวจวัดของไฟเบอร์ออปติกได้โดยอาศัยอนุภาคทองนาโน เพื่อทำให้เกิดปรากฏการณ์ localized Surface Plasmon Resonance (LSPR) ขึ้นรอบๆ อนุภาคทองนาโน ซึ่งการเกิด LSPR จะส่งผลต่อการดูดกลืนแสงของโครงสร้างทรงกลมของ metal nanoparticles (MNPs) จึงทำให้อนุภาคทองถูกนำมาประยุกต์ใช้กับงานเซนเซอร์มากขึ้น โดยขนาดของอนุภาคทองจะมีผลต่อสเปกตรัมการดูดกลืนแสงในช่วงที่ตามองเห็น (visible light) และนอกจากนั้นการเปลี่ยนแปลงของค่าดัชนีหักเห (refractive index) ของสารรอบๆ อนุภาคทองนาโนยังส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงความยาวคลื่น LSPR ($\Delta\lambda$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และทำให้มีค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นเมื่อค่าดัชนีหักเหของสารเพิ่มมากขึ้น จากหลักการที่กล่าวมานี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในไฟเบอร์ออปติกไบโอเซนเซอร์ โดยการวัดความเข้มของแสงเริ่มต้นที่ให้เข้าไปเปรียบเทียบกับความเข้มแสงที่ได้ออกมา เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีหักเหของสารหรือการที่มีโมเลกุลของสารต่างๆ มาติดบนพื้นผิวเซนเซอร์ ซึ่งค่าสัญญาณที่วัดได้เป็นสัดส่วนปริมาณแสงที่ผ่านออกมา (I_{out}) ต่อปริมาณแสงที่ผ่านเข้าไปในตัวอย่าง (I_{in}) หรือค่าการทะลุผ่านของแสง (transmittance; T) และสามารถแปลงเป็นค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ได้เช่นกัน ดังรูปที่ 1.1



รูปที่ 1.1 แสดงแสงที่ผ่านเข้าออกในตัวตัวอย่างเป็นระยะทาง L

โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อการพัฒนาเซนเซอร์ที่ใช้หลักการเชิงแสงสำหรับการวิเคราะห์สารชีวโมเลกุลหรือสารเคมี โดยมีเป้าหมายคือชุดอุปกรณ์ต้นแบบสำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการที่มีขนาดเล็ก ไม่ซับซ้อน ที่ประกอบด้วยสายไฟเบอร์ออปติกที่ทำการปรับปรุงพื้นผิวโดยการเคลือบอนุภาคทองนาโน เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการตรวจวัดสัญญาณประกอบเข้ากับแหล่งกำเนิดแสง (light source) เพื่อใช้ยิงแสงผ่านไฟเบอร์ และมีสเปกโตรมิเตอร์เป็นตัวรับสัญญาณ นอกเหนือจากนี้ผู้วิจัยเห็นว่าโครงการนี้น่าจะเป็นการสร้างโอกาสให้เกิดการพัฒนาเซนเซอร์สำหรับตรวจวัดสารชีวโมเลกุลหรือสารเคมีซึ่งมีชุดอุปกรณ์ที่ใช้งานง่าย ไม่ซับซ้อน สามารถสร้างขึ้นเองได้ในห้องปฏิบัติการ อีกทั้งยังมีโอกาสพัฒนาให้เป็นอุปกรณ์ต้นแบบขนาดเล็กชนิดพกพาได้เพื่อให้มีการใช้งานเข้าถึงได้ในหลากหลายพื้นที่ และสามารถนำไปต่อยอดสำหรับการตรวจวัดสารชีวเคมีชนิดอื่นๆ ได้อีกในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 1) เพื่อวิจัยและพัฒนาชุดอุปกรณ์ตรวจวัดสารชีวโมเลกุลหรือสารเคมีอย่างง่ายด้วยไฟเบอร์ออปติก (ใยแก้วนำแสง)
- 2) ประยุกต์ใช้อุปกรณ์ไฟเบอร์ออปติกในการตรวจวัดสารจำพวกโปรตีนหรือสารเคมีเพื่อประโยชน์ในด้านการแพทย์หรือการเกษตร

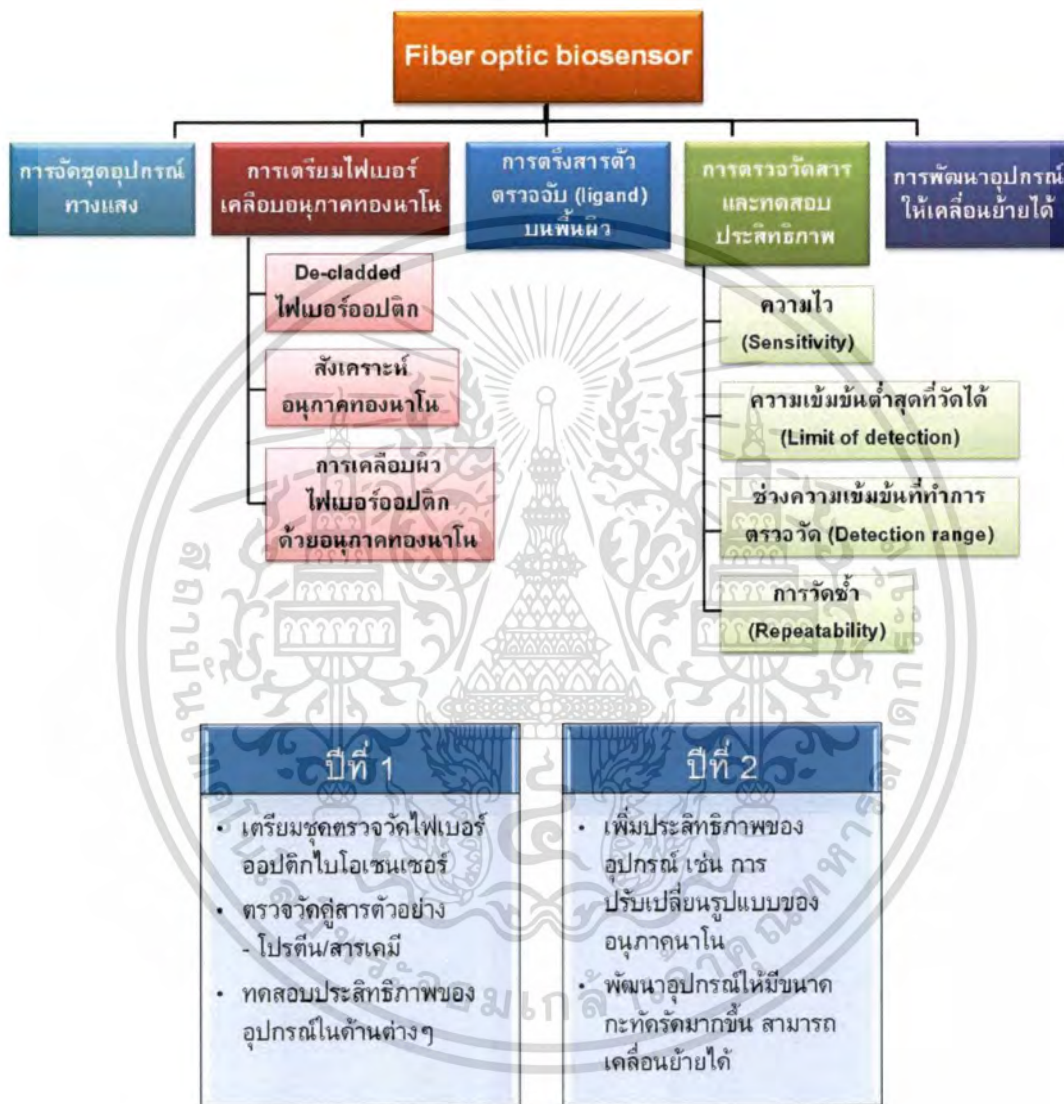
1.3 ขอบเขตของการวิจัย

- 1) ศึกษาและพัฒนาชุดอุปกรณ์ไฟเบอร์ออปติกเซนเซอร์อย่างง่ายเพื่อใช้ในการตรวจวัดสารชีวโมเลกุลหรือสารเคมี
- 2) ศึกษาและวิจัยการเตรียมไฟเบอร์ออปติกเพื่อใช้เป็นเซนเซอร์ในการตรวจวัดสารชีวโมเลกุลหรือสารเคมี โดยการเคลือบไฟเบอร์ออปติกด้วยอนุภาคทองคำนาโนเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการตรวจวัด
- 3) ศึกษาผลของการเคลือบไฟเบอร์ออปติกด้วยอนุภาคทองคำนาโนแบบกลม (Gold Nanosphere) และแบบแท่ง (Gold Nanorod) ต่อค่าความไวหรือความจำเพาะเจาะจงในการตรวจวัดสาร
- 4) การตรึงโมเลกุลตรวจจับ (Ligand) บนชั้นอนุภาคทองคำนาโน โดยวิธีการเชื่อมต่อดังพันธะทางเคมี (covalent binding) เพื่อใช้เป็นพื้นผิวเซนเซอร์
- 5) ทดสอบและพัฒนาประสิทธิภาพไฟเบอร์ออปติกที่เตรียมขึ้นในการตรวจวัดสารชีวโมเลกุลหรือสารเคมี เพื่อหากราฟมาตรฐาน (Calibration curve), ความไวในการตรวจวัด (Sensitivity), ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (Limit of detection), การวัดซ้ำ (Repeatability), ความจำเพาะเจาะจง (Specificity), อายุการใช้งานของเซนเซอร์ (Life time)
- 6) พัฒนาอุปกรณ์ให้มีขนาดที่กะทัดรัดมากขึ้น หรือสามารถเคลื่อนย้ายได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 วิธีดำเนินการวิจัย

แผนการดำเนินงานในระยะเวลา 2 ปี รายละเอียดของงานในภาพใหญ่และระยะเวลาในการดำเนินงานสามารถแบ่งออกได้ตามรูปที่ 1.2



รูปที่ 1.2 จำแนกภาพรวมของโครงการและระยะเวลาในการดำเนินการในภาพรวม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4.1 วิธีการเตรียม uncladded ไฟเบอร์ออปติก

1) ตัดสายไฟเบอร์ออปติกขนาดยาวประมาณ 15 เซนติเมตร และทำการลอกสายไฟเบอร์ตรงช่วงกลางประมาณ 2 เซนติเมตรหรือตามต้องการ เพื่อลอกชั้นด้านนอกที่เป็นส่วนของพลาสติกและ cladding ออกให้ถึงชั้นแก้วที่เป็นแกนด้านในของไฟเบอร์

2) ทำความสะอาดส่วน de-cladded ของไฟเบอร์ซึ่งเป็นชั้นแก้วโดยการแช่ในอะซิโตนเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นจึงกัดกรดด้วย piranha solution ซึ่งเตรียมจากการผสม 70% กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) และ 30% ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เป็นเวลา 10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำ DI (deionized water)

1.4.2 วิธีการเตรียมสารละลาย gold nanoparticle

1) ต้มสารละลาย 0.01% $HAuCl_4$ 50 mL จนเดือด

2) เติม 1% sodium citrate 1 mL ลงในสารละลาย $HAuCl_4$ รอเวลาประมาณ 15 นาที สารละลายเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเหลือง และต้มต่ออีกประมาณ 15 นาที

3) ปิด heat แล้วยกสารละลายออกจากเตาทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องพร้อมกับกวนสารละลายเรื่อยๆ

1.4.3 วิธีเตรียม gold nanorods 4, 5

1) เตรียม seed solution โดยผสม 0.2 M cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) 5 mL กับ 0.2 mM $HAuCl_4$ 5 mL เข้าด้วยกัน จากนั้นเติม 0.01 M ice-cold $NaBH_4$ 0.6 mL ลงในสารละลายผสม รอจนสารละลายกลายเป็นสีน้ำตาลเหลือง กวนสารละลายเป็นเวลา 2 นาที และเก็บสารละลายไว้ที่ $25^\circ C$

2) เตรียม growth solution โดยใส่ 0.0788 M กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) 420 μL ในสารละลายผสมของ 1 mM $HAuCl_4 \cdot 3H_2O$ 30 mL กับ 0.2 M CTAB 30 mL และ 0.02 M $AgNO_3$ 300 μL แล้วเขย่าให้เข้ากัน รอจนสารละลายเปลี่ยนจากสีน้ำตาลเข้มจนอ่อนลง

3) เมื่อ growth solution เปลี่ยนสีให้รีบเติม seed solution ที่เตรียมไว้ลงไปที่อุณหภูมิ $30^\circ C$ และกวนเป็นเวลา 20 วินาที สีของสารละลายจะค่อยๆ เปลี่ยนภายในเวลา 20 นาที

4) สารละลายถูกเก็บที่อุณหภูมิ $30^\circ C$ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดการฟอร์มตัวของ gold nanorods

1.4.4 วิธีการเคลือบผิวแก้วไฟเบอร์ออปติกด้วยอนุภาคทองคำนาโน

อาศัยวิธีการจริงผ่านพันธะเคมีโดยใช้สาร silane ซึ่งมีด้วยกันหลายแนวทาง ดังนี้

สำหรับ gold nanosphere

วิธีที่ 1

- 1) เคลือบ gold nanosphere โดยเริ่มจากนำ de-cladded ไฟเบอร์ ที่ทำความสะอาดแล้ว มาแช่สารละลาย 3% APTES ในเมทานอล และ 5% กรดอะซิติก เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นล้างด้วยเมทานอล
- 2) นำไฟเบอร์แช่ในสารละลาย gold nanosphere ทิ้งไว้ข้ามคืน
- 3) ล้างด้วยน้ำ DI และเป่าแห้งด้วยแก๊สไนโตรเจน

วิธีที่ 2

- 1) แช่ de-cladded ไฟเบอร์ ที่ทำความสะอาดแล้วใน 1% (3-aminopropyl)-trimethoxysilane (APTMS) ในเอทานอล เป็นเวลา 13 ชั่วโมง จากนั้นล้างไฟเบอร์ด้วยเอทานอล
- 2) นำไฟเบอร์ไปแช่ในสารละลาย gold nanosphere ทิ้งไว้ข้ามคืน
- 3) ล้างด้วยน้ำ DI และเป่าแห้งด้วยแก๊สไนโตรเจน

สำหรับ gold nanorod

- 1) แช่ de-cladded ไฟเบอร์ ที่ทำความสะอาดแล้วใน 1% (3-mercaptopropyl)-trimethoxysilane (MPTMS) ในเอทานอล เป็นเวลา 13 ชั่วโมง จากนั้นล้างไฟเบอร์ด้วยเอทานอล
- 2) นำไฟเบอร์แช่ในสารละลาย gold nanorod แล้วเติม 0.1 M โซเดียมคลอไรด์ให้ได้ อัตราส่วน 1:10 ของโซเดียมคลอไรด์ต่อ 10 ส่วนของ gold nanorod ทิ้งไว้เป็นเวลา 3 ชั่วโมง
- 3) ล้างด้วยน้ำ DI และเป่าแห้งด้วยแก๊สไนโตรเจน

1.4.5 วิธีตรึงสารชีวโมเลกุล (ligand) บนไฟเบอร์ออปติกเคลือบอนุภาคทองนาโน

- 1) แช่ไฟเบอร์ออปติกในสารละลาย 1:10 mM ของ 11-Mercapto-undecanoic acid (11-MUA) และ 3-mercaptopropanol (3-MPOH) ในเอทานอลเป็นเวลา 18 ชั่วโมง
- 2) เมื่อครบเวลา ล้างไฟเบอร์ด้วยเอทานอล 5 ครั้งและน้ำ DI 5 ครั้ง
- 3) แช่ไฟเบอร์ลงในสาร 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC) และ N-hydroxy-succinimide (NHS) ในอัตราส่วน 1:1 v/v ของ 0.4/0.1 M EDC/NHS
- 4) แช่ไฟเบอร์ในสารละลายโปรตีนที่ใช้เป็น receptor เช่น แอนติเจน หรือ แอนติบอดี ที่ละลายใน sodium acetate pH 4-5 เป็นเวลา 15 นาที
- 5) แช่ไฟเบอร์ในสาร ethanolamine pH 8.5 เพื่อ block พื้นผิว

1.4.6 วิธีการตรวจวัดสารตัวอย่าง

- 1) หลังจากตรึงโมเลกุล receptor ลงบนไฟเบอร์แล้ว นำไฟเบอร์ต่อเข้ากับ light source และ spectrometer ที่เป็นตัวรับสัญญาณ โดยส่วนกลางของไฟเบอร์คือ sensing area ที่ทำการตรึง receptor ไว้ จะอยู่ใน chamber ที่สามารถใส่สารที่ต้องการตรวจวัดลงไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) ทำการวัดค่าสัญญาณแสงที่ผ่านออกมา (transmission) โดยเทียบกับตอนที่ยังไม่ได้ใส่สารที่ต้องการตรวจวัด และใส่สารที่ต้องการตรวจวัด

3) ทำการปรับเปลี่ยนปริมาณความเข้มข้นของสารที่ต้องการตรวจวัดเพื่อสร้าง calibration curve, หา sensitivity และ limit of detection ของเซนเซอร์

1.4.7 วิธีการล้างเซนเซอร์

หลังจากวัดสารตัวอย่างแล้ว ทำการล้างโดยการปรับเปลี่ยน pH ของสารละลาย เพื่อให้สารตัวอย่างหลุดออก(dissociate) จากพื้นผิว แล้วใช้งานเซนเซอร์ในการตรวจวัดครั้งต่อไป

1.4.8 การวิเคราะห์ทดสอบ

1) ตรวจสอบการติดบนพื้นผิวของอนุภาคนาโนที่สังเคราะห์ขึ้นด้วยเทคนิค SEM / FESEM

2) ทดสอบสมบัติเชิงแสงของสารละลายด้วยเทคนิค Uv-Vis spectroscopy

1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย

ในโครงการวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาและพัฒนาเทคนิคเชิงแสงเข้ามาประยุกต์ใช้ในการทำเซนเซอร์สำหรับตรวจวัดสารชีวโมเลกุล โดยอาศัยใยแก้วนำแสงหรือไฟเบอร์ออปติกร่วมกับอนุภาคทองคำนาโน เนื่องจากไฟเบอร์ออปติกมีคุณสมบัติที่ดีคือ ส่งข้อมูลด้วยความเร็วสูง ไม่มีการรบกวนทางแม่เหล็กไฟฟ้า ส่งข้อมูลได้ในปริมาณมาก เมื่อประยุกต์เป็นเซนเซอร์แล้วทำให้มีขนาดที่กะทัดรัด ชุดอุปกรณ์จัดเตรียมง่าย ราคาถูกลง มีน้ำหนักเบา สามารถพัฒนาให้เกิดเป็นการสื่อสารหรือส่งสัญญาณทางไกลได้ ส่วนอนุภาคทองคำนาโนเมื่อนำมาเคลือบบนแกนกลางของไฟเบอร์แล้วจะสามารถช่วยเพิ่มสัญญาณในการตรวจวัดสารที่สนใจได้ เนื่องจากชั้นทองจะเพิ่มความแรงของ evanescence wave ทำให้ความไว (sensitivity) ในการตรวจวัดเพิ่มขึ้นและนอกจากนี้ยังใช้ปริมาณสารตัวอย่างน้อย

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.6.1 ได้องค์ความรู้เกี่ยวกับการสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดสารชีวโมเลกุลเชิงแสง

1.6.2 ได้เครื่องวัดที่มีความไวและบอกค่าเชิงปริมาณสำหรับตรวจวัดสารตัวอย่างได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2 บทนำ

2.1 ทฤษฎี สมมติฐานและกรอบแนวคิดของโครงการวิจัยไฟเบอร์ออปติกหรือใยแก้วนำแสง

ไฟเบอร์ออปติกทำจากแก้วหรือพลาสติกคุณภาพสูง มีความยืดหยุ่นโค้งงอได้ ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวกลางในการส่งแสงจากปลายด้านหนึ่งไปยังอีกด้านหนึ่งด้วยความเร็วเกือบเท่าแสงดังแสดงในรูปที่ 2.1 (ก) ทำให้สามารถรับและส่งสัญญาณได้อย่างรวดเร็ว นอกจากนี้สัญญาณแม่เหล็กไฟฟ้าภายนอกไม่สามารถรบกวนต่อความชัดเจนของข้อมูลที่ส่งผ่านทางไฟเบอร์ออปติกได้ ดังนั้นไฟเบอร์ออปติกจึงถูกนำมาใช้เป็นตัวกลางในการส่งถ่ายข้อมูล



รูปที่ 2.1 ก) ไฟเบอร์ออปติก (6) และ ข) องค์ประกอบของไฟเบอร์ออปติก (7)

โครงสร้างของไฟเบอร์ออปติกประกอบด้วยส่วนที่เป็นแกน (core) อยู่ชั้นในถูกหุ้มด้วยส่วนที่เป็นแคลด (cladding) แล้วถูกหุ้มด้วยส่วนที่ป้องกัน (coating) ดังแสดงในรูปที่ 2.1 (ข) ซึ่งวัสดุในแต่ละส่วนนี้จะมีค่าดัชนีหักเหของแสงที่ต่างกัน โดยชั้นแกนจะมีค่าดัชนีหักเหมากกว่าชั้นแคลดเล็กน้อย เพื่อควบคุมทำให้เกิดปรากฏการณ์สะท้อนกลับหมด (total internal reflection ; TIR) จึงทำให้เกิดการเดินทางของแสงที่ถูกขังแต่เฉพาะในแกนกลาง เนื่องจากแสงแพร่กระจายเข้าไปในสายไฟเบอร์โดยอาศัยการสะท้อนกลับหมดของแสงภายในชั้นแกนกลาง ซึ่งการเกิด TIR นั้น มีสิ่งที่เกี่ยวข้องคือ 1) ทำให้แสงเดินทางได้ในแกนของไฟเบอร์ออปติก และ 2) เกิดสนามไฟฟ้าที่เรียกว่า evanescent field ขึ้นในชั้นแคลดติด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชนิดของไฟเบอร์ออปติก

1) Multi mode (MM) ใยแก้วนำแสงมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางแกนในช่วง 50-200 ไมครอน และขนาดเปลือกหุ้มเส้นผ่านศูนย์กลางในช่วง 125-400 ไมครอน แกนกลางมีขนาดใหญ่ทำให้การเดินทางของแสงกระจัดกระจายจึงมีการสูญเสียของแสงมาก จึงส่งข้อมูลได้ไม่ไกลมากนักประมาณ 200 เมตร แต่มีข้อดีคือ ราคาถูก และผลิตได้ง่ายกว่า

2) Single mode (SM) ใยแก้วนำแสงมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางแกนในช่วง 8-12 ไมครอน และขนาดเปลือกหุ้มเส้นผ่านศูนย์กลาง 125 ไมครอน แกนกลางมีขนาดเล็ก แสงเดินทางเป็นระเบียบจึงมีการสูญเสียแสงน้อยระหว่างเดินทาง สามารถส่งสัญญาณได้ไกลเป็น 20 กิโลเมตร

หลักการของไฟเบอร์ออปติก

อธิบายได้จากรูปที่ 2.2 (ก) ซึ่งเป็นหลักการทางแสง โดยให้ S เป็นแหล่งจ่ายแสง เมื่อแสงเดินทางไปยังจุดต่างๆ ของผิวแก้วที่มีค่าดัชนีหักเห n_2 ที่จุด A แสงจะทะลุผ่านผิวแก้วไปยังชั้นของอากาศที่มีค่าดัชนีหักเห n_1 โดยไม่มีการหักเหของแสง ส่วนที่จุด B แสงจะเกิดการหักเหและบางส่วนสะท้อนกลับมาในชั้นแก้ว ที่จุด C จะเกิดการหักเหของแสงน้อยลงและเกิดการสะท้อนกลับมากขึ้น ที่จุด D แสงจะสะท้อนกลับมายังในชั้นแก้วทั้งหมด ซึ่งจะเรียกจุดนี้ว่า มุมวิกฤติ (critical angle ; θ_c)



รูปที่ 2.2 (ก) แสดงการสะท้อนกลับของแสง, (ข) เส้นทางของแสงในไฟเบอร์ออปติก (8)

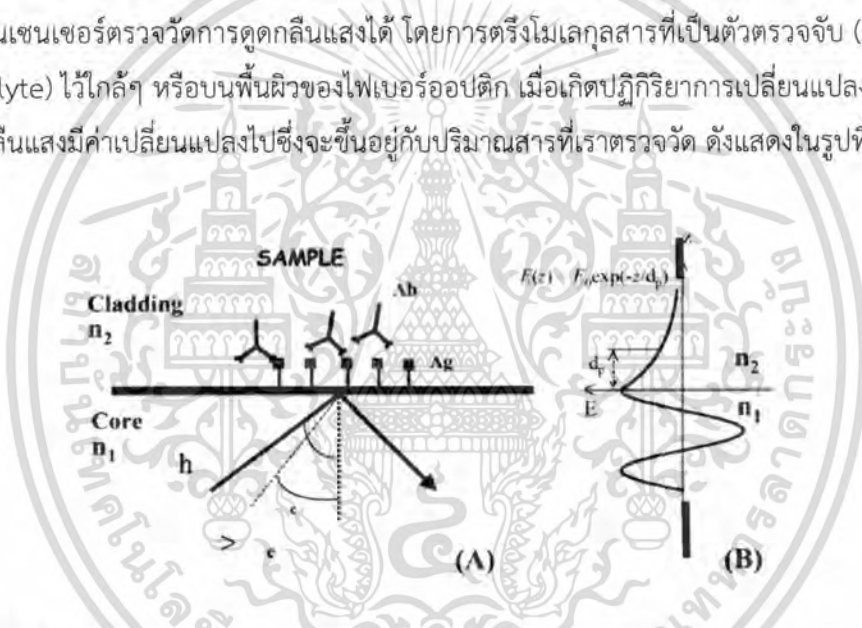
ที่มุมนี้ จะเกิดปรากฏการณ์การสะท้อนกลับหมด (total internal reflection) ของแสงและสามารถหาค่ามุม θ_c ได้จากสมการที่ 2.1

$$\theta_c = \sin^{-1} \frac{n_2}{n_1} \quad \text{-----} [2.1]$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นเมื่อแสงผ่านเข้ามาในสายไฟเบอร์จะเกิดการสะท้อนกลับหมดที่ผิวแก้วมายังชั้นในแก้วและไปกระทบกับอีกด้านหนึ่งของแก้ว จึงเกิดการสะท้อนกลับไปตามของแสงในชั้นแก้วของไฟเบอร์โดยไม่มีการทะลุผ่านไปยังชั้นอากาศ ทำให้สายไฟเบอร์สามารถนำแสงจากจุดหนึ่งไปอีกจุดหนึ่งได้ ดังแสดงในรูปที่ 2.2 (ข)

ในปัจจุบันนี้ได้มีการประยุกต์ใช้ไฟเบอร์ออปติกเป็นเซนเซอร์ในการตรวจวัดสารชีวโมเลกุล โดยอาศัยหลักการเดินทางของแสงในสายไฟเบอร์ เมื่อแสงเดินทางในชั้นแก้วในสถานะที่มุมตกกระทบมากกว่ามุมวิกฤตจะเกิดการสะท้อนกลับหมดของแสง และในขณะเดียวกันจะมีแสงบางส่วนทะลุไปยังที่ผิวหน้าในชั้นที่มีค่าดัชนีหักเห้น้อยกว่าโดยทำให้มีสนามแม่เหล็กไฟฟ้าที่เรียกว่า evanescence wave เกิดขึ้นที่ผิวรอยต่อระหว่างชั้น n_1 และ n_2 ซึ่งความแรงของสนามแม่เหล็กไฟฟ้านี้จะลดลงแบบเอกโพเนนเชียลจากผิวหน้าของรอยต่อและจะขึ้นกับค่ามุมตกกระทบ ความยาวคลื่นแสง และดัชนีหักเหของสารบนผิวหน้า สนาม evanescence wave จะมีความไวต่อสารที่อยู่ในระยะยังผล (penetration depth; d_p) ของ wave จึงสามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นเซนเซอร์ตรวจวัดการดูดกลืนแสงได้ โดยการตรึงโมเลกุลสารที่เป็นตัวตรวจจับ (ligand) สารที่เราสนใจ (analyte) ไว้ใกล้ๆ หรือบนพื้นผิวของไฟเบอร์ออปติก เมื่อเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงบนผิวหน้าจะทำให้การดูดกลืนแสงมีค่าเปลี่ยนแปลงไปซึ่งจะขึ้นอยู่กัปริมาณสารที่เราตรวจวัด ดังแสดงในรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 การสะท้อนกลับหมดของแสง (total internal reflection ; TIR) ที่ผิวหน้ารอยต่อระหว่างชั้น n_1 และ n_2 โดย $n_1 > n_2$ เมื่อมุมตกกระทบมากกว่ามุมวิกฤต θ_c (A) และ แอมพลิจูดของสนามไฟฟ้าทางด้าน core และ cladding โดยด้าน cladding จะมีสนามไฟฟ้า evanescence wave ที่มีค่าลดลงแบบเอกโพเนนเชียล (B) (9)

ซึ่งค่าระยะยังผล d_p จะลดลงแบบเอกโพเนนเชียล (exponential decay) จากผิวหน้ารอยต่อ และสามารถคำนวณได้จากสมการต่อไปนี้ (10)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$d_p = \frac{\lambda}{2\pi\sqrt{n_{co}^2 \sin^2 \theta - n_{cl}^2}} \quad \text{-----} [2.2]$$

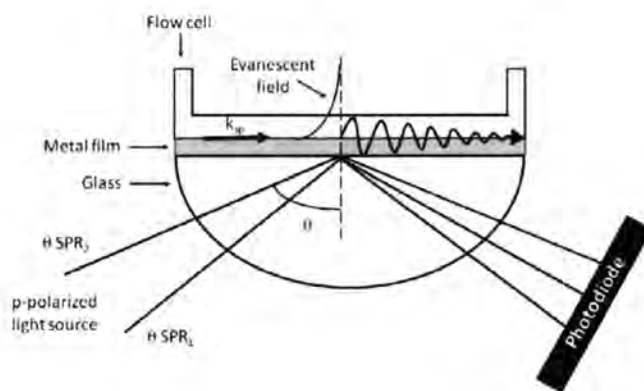
โดยที่ λ คือ ความยาวคลื่นของแสง, θ คือมุมตกกระทบของแสงที่ผิวรอยต่อของชั้น core/cladding, n_{co} และ n_{cl} คือค่าดัชนีหักเหของชั้น core และ cladding ดังนั้นการที่เอาชั้นแคลคติดออกให้เหลือแต่แกนไฟเบอร์ที่เป็นแก้ว จะทำให้ evanescence wave ที่เกิดขึ้น สามารถตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นบนผิวหน้า core ของไฟเบอร์ได้ ดังแสดงในภาพที่ 2.4



รูปที่ 2.4 แสดงรูปแบบการเดินทางของแสงผ่านไฟเบอร์ออปติก และการเกิด evanescence wave รวมถึง penetration depth ที่เกิดขึ้นด้วยมุมตกกระทบ θ (11)

จากหลักการของไฟเบอร์ออปติกนี้สามารถที่จะเพิ่มสัญญาณของ evanescence wave ได้ โดยการเคลือบชั้นโลหะ เช่น ทองบนผิวแก้ว ซึ่งใช้หลักการเดียวกันกับเทคนิคเอสพีอาร์ (SPR; surface plasmon resonance) (12-14) แต่โดยปกติแล้วเทคนิคเอสพีอาร์เป็นการจัดแสงแบบ Kretschmann configuration ประกอบไปด้วยชั้นโลหะที่เคลือบอยู่บนปริซึม เมื่อยิงแสงผ่านปริซึมตกกระทบผิวโลหะที่มุมเฉพาะมุมหนึ่งทีละมุมวิฤตไปแล้วจะเกิดการดูดกลืนพลังงานของแสงตกกระทบไปที่ผิวหน้าโลหะ ทำให้แสงสะท้อนมีค่าลดลงต่ำสุด จะเรียกมุมนี้อ่ามุมเอสพีอาร์ (SPR angle) ซึ่งจะมี evanescence wave เกิดขึ้นที่ผิวหน้าโลหะและลดลงแบบเอกโพเนนเชียล ดังแสดงในรูปที่ 2.5 ซึ่งมุม SPR นี้มีความไวต่อค่าดัชนีหักเหของสารบนผิวหน้าทอง ทำให้เทคนิค SPR สามารถตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงของสารชีวโมเลกุลที่เกิดขึ้นบนผิวหน้าทองได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.5 โครงสร้างเทคนิค SPR (14)

เทคนิคเอสพีอาร์มีข้อดีเนื่องจากมีความไว (sensitivity) ในการตรวจวัด และสามารถตรวจวัดสารได้หลายชนิดพร้อมกัน แต่อย่างไรก็ตามตัวเครื่องยังมีความยุ่งยากซับซ้อนและขนาดใหญ่ ในปัจจุบันเทคโนโลยีเซนเซอร์ได้มีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องเพื่อทำให้มีประสิทธิภาพการตรวจวัดที่ดีขึ้น มีความไวในการตรวจวัดที่เร็วขึ้น และมีการทำให้มีขนาดที่เล็กลงและสามารถพกพาได้สะดวก เพื่อที่จะรองรับการตรวจวัดในพื้นที่ที่มีจำกัดหรือต้องออกนอกพื้นที่ การตรวจวินิจฉัยในทางการแพทย์หรือการตรวจวัดปริมาณสารเคมีในทางเกษตรมีความจำเป็นที่จะต้องใช้อุปกรณ์เครื่องมือที่มีประสิทธิภาพ ดังนั้นหากมีการพัฒนาเซนเซอร์ให้มีความไวในการตรวจวัดจำเพาะเจาะจงต่อสารและสามารถพกพาได้นับว่าเป็นเรื่องที่สำคัญ

อนุภาคทองคำนาโน Gold nanoparticles (GNPs)

อนุภาคทองคำนาโนเป็นวัสดุโครงสร้างระดับนาโนซึ่งได้เข้ามามีบทบาทและได้รับความสนใจจากนักวิจัยอย่างแพร่หลาย เนื่องจากคุณสมบัติที่เรียกว่าเซอร์เฟซพลาสมอนเรโซแนนซ์ (surface plasmon resonance, SPR) โดย SPR เป็นปรากฏการณ์เชิงแสง เมื่อคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าภายนอกมาตกกระทบโลหะ ทำให้กลุ่มอิเล็กตรอนที่ถูกจำกัดอยู่ในอนุภาคระดับนาโนเกิดการสั่นรวม (collective oscillation) หากว่าคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าภายนอก มีความยาวคลื่นเดียวกับความยาวคลื่นของอิเล็กตรอนที่สั่นในอนุภาคนาโน จะทำให้เกิดการสั่นพ้องขึ้น (15) ซึ่งแสงสามารถทำอันตรกิริยากับโลหะได้สองแบบคือ การกระเจิง (scattering) หรือคือการที่แสงตกกระทบและสะท้อนออกไปด้วยความยาวคลื่นเท่าเดิมทุกทิศทาง และในขณะเดียวกันโฟตอนบางส่วนจะถูกดูดกลืนและถูกเปลี่ยนไปเป็นพลังงานการสั่น ซึ่งเรียกว่าการดูดกลืนแสง (absorption) เมื่อแสงตกกระทบที่โครงสร้างระดับนาโนของทอง อิเล็กตรอนจะถูกกระตุ้นไปยังแถบเหนี่ยวนำและจะเกิดการสั่นพ้องกับแสงที่มาตกกระทบ ซึ่งทำให้เกิดพลาสมอนโพลาไรตรอน (รูปที่ 2.6 (ก)) ซึ่งจะสามารถถ่ายทอดระหว่างรอยต่อของโลหะและไดอิเล็กทริก ซึ่งปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นนี้จะเกิดอยู่บริเวณเปลือกชั้นนอกของโลหะนาโน

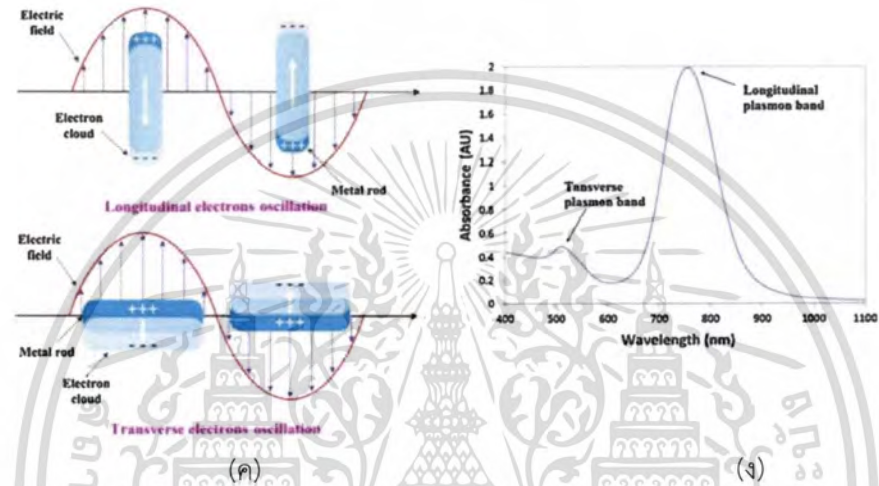
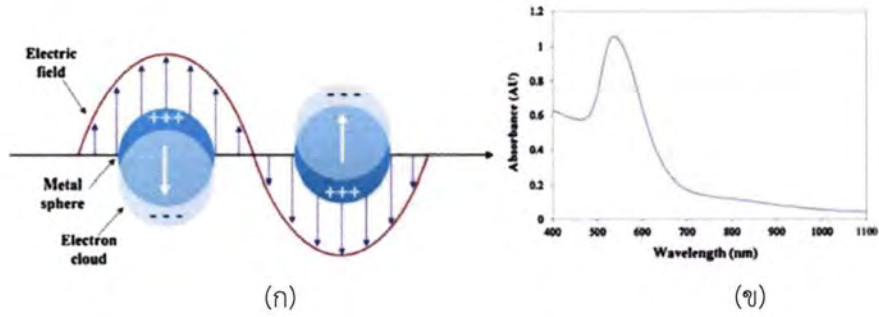
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพราะแสงจากภายนอกไม่สามารถส่องทะลุผ่านเข้าไปภายในวัสดุได้ โดยทั่วไปจึงเรียกปรากฏการณ์นี้ว่า localized surface plasmon resonance (16-17) โดยทั่วไปแล้วโครงสร้างระดับนาโนของทองจะเกิดทั้งกระบวนการกระเจิงแสงและการดูดกลืนแสง ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้จะขึ้นอยู่กับขนาดและรูปร่างของอนุภาคนาโน

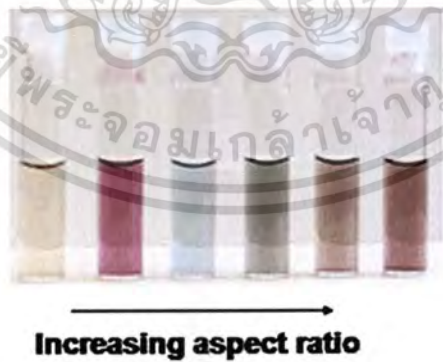
Localized Surface Plasmon Resonance; LSPR เป็นสมบัติทางแสงที่เกิดได้จากอนุภาคโลหะนาโน (metal nanoparticles: MNPs) ซึ่งเป็นสมบัติที่ทำให้เกิดความแตกต่างระหว่างโลหะขนาดใหญ่ (bulk metal) และโลหะระดับนาโน ซึ่งตามทฤษฎีของ Jie Cao และคณะ (18) เมื่อแสงกระทบกับผิวโลหะระดับนาโน สนามไฟฟ้าของแสงที่มากระทบจะเหนี่ยวนำให้อิเล็กตรอนบนผิวของ MNPs นั้นเกิดการสั่นพ้องกับค่าความถี่ของแสงที่มากระทบ ซึ่งสนามไฟฟ้าจากแสงที่ตกกระทบจะกระตุ้นและเหนี่ยวนำให้เกิดรอยต่อประจุระหว่างอิเล็กตรอนอิสระและแกนของโลหะนาโน และแรงคูลอมบ์ของอิเล็กตรอนอิสระเหล่านี้จะทำให้เกิดแรงดึงดูดกลับในทิศตรงกันข้ามดังแสดงในรูปที่ 2.6 ซึ่งทำให้เกิดการสั่นและการดูดกลืนแสงในความถี่นั้นเข้ามาในอนุภาคนาโน หรือกล่าวคือการเกิด LSPR ทำให้มีการดูดกลืนแสงเกิดขึ้น โดยความแตกต่างของขนาดของอนุภาค รูปร่าง และชนิดของอนุภาคนาโน จะทำให้เกิดการดูดกลืนแสงที่แตกต่างกัน ซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเชิงสีของอนุภาค ดังแสดงในรูปที่ 2.7

การกระตุ้นอนุภาคทรงกลมของ GNPs ให้เกิด LSPR จะเกิดการดูดกลืนแสงที่ตำแหน่งเดียว (รูปที่ 2.6 (ข)) ในขณะที่เดียวกัน gold nanorods (GNRs) จะเกิดการดูดกลืนแสงในสองตำแหน่ง (รูปที่ 2.6 (ง)) ซึ่งเกิดจากการสั่นในแนวตามขวาง (transverse plasmon band: TPB) และการสั่นในแนวตามยาว (longitudinal plasmon band: LPB) โดย TPB นั้นจะไม่มีผลกระทบต่อเปลี่ยนแปลงของขนาดของ GNRs (11) และการเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีหักเหของพื้นผิวโดยรอบ ในทางกลับกัน LPB จะกระตุ้นการดูดกลืนในช่วงแสงสีแดงมากขึ้น (red shift) เมื่อมีการเพิ่มค่า aspect ratio ของ GNRs และมีการตอบสนองสูงมากต่อการเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีหักเห ดังนั้นขนาด รูปร่าง และสมบัติทางไฟฟ้าของอนุภาคโลหะระดับนาโน มีผลอย่างมากต่อคุณสมบัติ LSPR โดยจะส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าความหนาแน่นอิเล็กตรอน (electron charge density) บนผิวของ MNPs ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของค่าการดูดกลืนแสงนี้ จะใช้เป็นตัวชี้วัดของการตอบสนองของเซนเซอร์ LSPR

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.6 ก) รูปแบบการเกิด LSPR ของ GNPs ข) สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ GNPs
 ค) รูปแบบการเกิด LSPR ของ GNRs ทั้งสองแกน ง) สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ GNRs (17-18)



รูปที่ 2.7 สารละลายอนุภาคแท่งทองคำ aspect ratio ต่างๆ แสดงถึงสีของสารละลายที่ต่างกัน (19)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

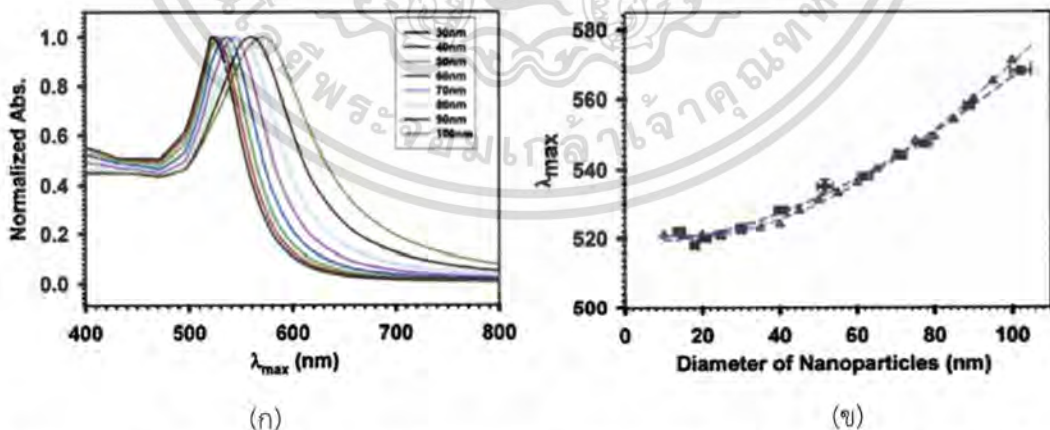
การดูดกลืนแสงหรือการทะลุผ่านของแสง (Absorbance or Transmittance property)

จากรูปที่ 2.6 การกระตุ้นการเกิด LSPR จะส่งผลกระทบต่อ การดูดกลืนแสง สำหรับ โครงสร้างทรงกลมของ MNPs การอธิบายการดูดกลืนแสงเนื่องมาจากการเกิด LSPR จะใช้ระบบวิธีการของ Mie ในการแก้สมการ Maxwell (20) จากทฤษฎีของ Mie ใช้ในการกระจายอนุภาคทรงกลมระดับนาโนที่มีรัศมีเป็น R โดยที่ค่า R มีค่าน้อยกว่าค่าความยาวคลื่น (λ) ของแสงมาก ($R/\lambda < 0.1$) ค่าการสูญเสียพลังงานของแสงเนื่องจากการถูกดูดกลืนและการกระเจิงแสง (Extinction cross section: C_{ext}) จะถูกกำหนดโดยสมการที่ 2.3 (18)

$$C_{ext} = \frac{24\pi^2 R^3 N \epsilon_m^{3/2}}{\lambda} \frac{\epsilon_i}{(\epsilon_r + 2\epsilon_m)^2 + \epsilon_i^2} \quad \text{-----} [2.3]$$

เมื่อ ϵ_m คือค่าคงที่ไดอิเล็กทริก (Dielectric constant) และ ϵ_r และ ϵ_i คือ ส่วนจริงและส่วนจินตภาพของฟังก์ชัน ไดอิเล็กทริกของอนุภาคโลหะนาโน และ N คือ จำนวนของอนุภาคต่อหนึ่งหน่วยปริมาตร จากสมการที่ 2.3 ค่าของการดูดกลืนแสงจะเกิดเมื่อ $\epsilon_r = -2\epsilon_m$ สำหรับอนุภาคทองและเงินนาโนมีค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วงของแสงที่ตามองเห็น (visible light) ซึ่งทำให้อนุภาคทั้งสองชนิดนิยมมาประยุกต์ใช้ในงานเซนเซอร์ เมื่อใช้แสงเลเซอร์ และ LEDs เป็นแสงในการกระตุ้น LSPR

ความสัมพันธ์ของขนาดของ GNPs กับ LSPR ซึ่งถูกคำนวณมาจากสมการที่ 2.3 ถูกแสดงในรูปที่ 2.8 (ก) ในรูปของสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ GNPs ที่ขนาดต่างๆ ซึ่งจะสังเกตเห็นชัดเจนถึงการเปลี่ยนแปลงสเปกตรัมการดูดกลืนไปย่านแสงสีแดง (red shift) เมื่อขนาดของ GNPs เพิ่มขึ้น (รูปที่ 2.8 (ข))



รูปที่ 2.8 (ก) การเกิด Red shift ของสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ GNPs เมื่อขนาดของ GNPs ใหญ่ขึ้น และ (ข) แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงสูงที่สุดที่ขนาดต่างๆ ของ GNPs (11)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปลี่ยนแปลงสาร medium รอบๆ อนุภาคนาโนนั้น ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงความยาวคลื่น LSPR ($\Delta\lambda$) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของค่าดัชนีหักเห ซึ่งอธิบายได้โดยสมการที่ 2.4

$$\Delta\lambda = m\Delta n \left[1 - \exp\left(\frac{-2d}{l_d}\right) \right] \quad \text{-----} \quad [2.4]$$

เมื่อค่า Δn คือค่าการเปลี่ยนแปลงดัชนีหักเห หน่วยเป็น RIU, m คือ ค่าการตอบสนองต่อค่าดัชนีหักเหของอนุภาคโลหะนาโนใน หรือเป็นค่า sensitivity จะหาได้จาก การเปลี่ยนแปลงความยาวคลื่นต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าดัชนีหักเหในหน่วย nm/RIU (nm per refractive index unit) และ ค่า d คือ ความหนาของชั้นที่ทำหน้าที่ดูดกลืนแสง (นาโนเมตร) และ l_d เป็นค่าสมบัติการลดทอนของสนามไฟฟ้า (evanescent wave field) ในหน่วยของนาโนเมตร ซึ่งสมการที่ 2.4 นั้นเป็นสมการพื้นฐานในการสร้าง LSPR wavelength-shift based sensors (LSPR sensors) โดยใช้การเปลี่ยนแปลงค่าความยาวคลื่นที่ดูดกลืนเนื่องมาจากการเกิดปรากฏการณ์ LSPR ซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของค่าดัชนีหักเหบนพื้นผิวของอนุภาคนาโน

ในโครงการวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาและพัฒนาเทคนิคเชิงแสงเข้ามาประยุกต์ใช้ในการทำเซนเซอร์สำหรับตรวจวัดสารชีวโมเลกุล โดยอาศัยใยแก้วนำแสงหรือไฟเบอร์ออปติกร่วมกับอนุภาคนาโน เนื่องจากไฟเบอร์ออปติคมีคุณสมบัติที่ดีคือ ส่งข้อมูลด้วยความเร็วสูง ไม่มีการรบกวนทางแม่เหล็กไฟฟ้า ส่งข้อมูลได้ในปริมาณมาก เมื่อประยุกต์เป็นเซนเซอร์แล้วทำให้มีขนาดที่กะทัดรัด ชุดอุปกรณ์จัดเตรียมง่าย ราคาถูกลง มีน้ำหนักเบา สามารถพัฒนาให้เกิดเป็นการสื่อสารหรือส่งสัญญาณทางไกลได้ ส่วนอนุภาคนาโนเมื่อนำมาเคลือบบนแกนกลางของไฟเบอร์แล้วจะสามารถช่วยเพิ่มสัญญาณในการตรวจวัดสารที่สนใจได้ เนื่องจากชั้นทองจะเพิ่มความแรงของ evanescent wave ทำให้ความไว (sensitivity) ในการตรวจวัดเพิ่มขึ้นและนอกจากนี้ยังใช้ปริมาณสารตัวอย่างน้อย

2.2 การทบทวนวรรณกรรม

งานวิจัยที่ประยุกต์ใช้ไฟเบอร์ออปติกในการตรวจวัดสารตัวอย่างหลายชนิด อาทิเช่น ในปี ค.ศ. 1996 Tempelman และคณะ (21) ทำการตรวจวัดปริมาณ Staphylococcal enterotoxin B (SEB) ซึ่งเป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ โดยใช้เทคนิคของไฟเบอร์ออปติกในโหมดของการตรวจวัดแบบฟลูออเรสเซนซ์ และใช้แอนติบอดีเป็นตัว receptor ในการตรวจจับ SEB มีแหล่งกำเนิดแสงเป็นเลเซอร์ที่มีความยาวคลื่น 635 นาโนเมตรเพื่อใช้กระตุ้นโมเลกุลฟลูออเรสเซนซ์ที่ติดกับแอนติบอดีเพื่อทำให้สามารถตรวจวัดสัญญาณได้ โดยมี LOD เท่ากับ 0.5 ng/mL

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในปี ค.ศ. 1997 Kleinjung และคณะ (22) ได้จัดทำอุปกรณ์ตรวจวัด DNA hybridization โดยใช้ไฟเบอร์ออปติกในรูปแบบของ fluorescent multimode fiber optic ซึ่งทำการตรึง DNA probe ที่มีความยาว 13 mer ลงบนส่วน de-cladded core ของไฟเบอร์ออปติก จากนั้นนำไปตรวจจับสาย DNA ที่เข้าคู่กับ DNA probe (complementary strand DNA) ซึ่งถูก label ด้วยโมเลกุลฟลูออเรสเซนต์ เทคนิคนี้ตรวจวัด DNA ได้ต่ำถึง 3.2 attomoles (70 fM) และมีความจำเพาะเจาะจงเนื่องจากสามารถแยกแยะ DNA คู่สายที่ specific กับ คู่สายที่ mismatch ได้

ในปี ค.ศ. 2001 Ferreira และคณะ (23) ได้พัฒนาไฟเบอร์ออปติกเซนเซอร์สำหรับตรวจวัดการโตของ *Escherichia coli* O157:H7 โดยการใช้อนุภาคนาโนเคลือบเพื่อกักเอา cladding ออกและเจอชั้นแกนที่เป็นแก้ว และใช้ปรากฏการณ์ของ evanescence wave ที่เกิดขึ้นตรงผิวแก้วที่แกนกลางของไฟเบอร์ซึ่งเป็น sensing area ในการตรวจวัดแบคทีเรีย โดยค่าสัญญาณที่ตรวจวัดได้จะลดลงตามความเข้มข้นของแบคทีเรียที่อยู่ในสารละลาย เนื่องจากเกิดการดูดกลืนแสงของแบคทีเรียที่ผิวแก้ว

ในปี ค.ศ. 2003 Preejith และคณะ (24) ทำการตรวจวัดโปรตีนตัวอย่างด้วยไฟเบอร์ออปติกเซนเซอร์เพื่อประยุกต์ใช้ในด้านทางการแพทย์ โดยการตรึงโมเลกุล dye Comassie Blue ในรูพรุนแก้วที่เคลือบอยู่บนไฟเบอร์ออปติก ปกติแล้ว Comassie Blue จะดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 467 nm แต่เมื่อ Comassie Blue จับกับโมเลกุลโปรตีนจะเกิดเป็นคอมเพล็กซ์ขึ้นในสภาวะที่เป็นกรด และมีการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่นเปลี่ยนไปคือ 590 nm ดังนั้นความเข้มข้นของโปรตีนที่วัดได้จะเป็นส่วนกลับกับสัญญาณแสงที่วัดได้ที่ 590 nm เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของโปรตีนทำให้เกิดการดูดกลืนแสงที่ 590 nm มากขึ้น แสงที่วัดได้ตรง detector จึงลดลง โดยงานวิจัยนี้สามารถหากราฟมาตรฐานของโปรตีน BSA, hemoglobin, ovalbumin และ cytochrome c ในช่วงความเข้มข้น 0-20 µg/mL

ในปี ค.ศ. 2004 Geng และคณะ (25) ได้ใช้ไฟเบอร์ออปติกในการตรวจวัด *L. monocytogenes* โดยอาศัยวิธีการทางอิมมูโนและฟลูออเรสเซนต์ ซึ่งเมื่อมี *Listeria* species อยู่ในสารละลายจะทำให้ค่าการเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์เปลี่ยนแปลงแบบลดลงขึ้นกับปริมาณของ *listeria* ในระบบ ซึ่งมีความเข้มข้นต่ำสุดที่วัดได้ LOD เท่ากับ 4.3×10^3 CFU/mL ในสารละลายมาตรฐาน และ 10-1000 CFU/g ในฮอตดอกหรือโบลอน่า ซึ่งเป็น real sample

การพัฒนาของไฟเบอร์ออปติกเซนเซอร์ในหลายๆ ปีที่ผ่านมา เป็นไปอย่างต่อเนื่องและก้าวกระโดด หลายงานวิจัยได้มีการนำวัสดุนาโนหลายๆ โครงสร้างเข้ามาประยุกต์ใช้ในการพัฒนาประสิทธิภาพหรือสมบัติของไฟเบอร์ออปติก เช่น การนำอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (ZnO NPs) และฟิล์มบางซิงค์ออกไซด์ (ZnO thin film) มาตรวจวัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H₂S) (26) การใช้อนุภาคเงินนาโน (silver nanoparticles : AgNPs) ช่วยในการตรวจวัดสารเมลามีน (27) และการนำอนุภาคทองคำนาโน (gold nanoparticles : GNPs) หรือ แท่งทองคำนาโน (gold nanorods : GNRs) มาใช้ในการตรวจวัดทั้งทางการแพทย์และสาธารณสุข เช่น ใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

งานวิจัยของ Hsing-Ying Lin และคณะ ในปี ค.ศ. 2014 (28) ได้นำอนุภาคนาโนเข้ามาประยุกต์ใช้กับไฟเบอร์ออปติกเซนเซอร์ เพื่อพัฒนาไฟเบอร์ออปติกให้เป็นเซนเซอร์ที่ไม่ต้องอาศัยโมเลกุลติดฉลากในการตรวจวัด orchid virus, CymMV และ ORSV, โดยใช้อนุภาคทอง (gold nanorod) เป็นตัวส่งสัญญาณ ซึ่งช่วยให้สามารถตรวจวัดสาร orchid virus ในสารละลายจริงที่เตรียมได้จากพืชโดยไม่มีสัญญาณรบกวนจากตัวรบกวนอื่นๆ ในสารละลายน้ำพืช เนื่องจาก gold nanorod มีสเปคตรัมการดูดกลืนแสงในช่วงที่ไม่ overlap กับสารละลายน้ำพืช ซึ่งไฟเบอร์ออปติกที่เตรียมขึ้นนี้มี resolution เท่ากับ 8×10^{-6} RIU ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่วัดได้ (LOD) ของ CymMV และ ORSV อยู่ที่ 48 และ 42 พิโคกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งต่ำกว่า LOD ของเทคนิค ELISA (1200 พิโคกรัม/มิลลิลิตร) นอกจากนี้เทคนิคนี้ยังให้ความไวในการตรวจวัดสูง ทำซ้ำได้ ใช้เวลาในการตรวจวัดประมาณ 10 นาทีต่อครั้ง สามารถที่จะพัฒนาต่อไปเพื่อใช้ในการตรวจวัดในเชิงอุตสาหกรรมได้

ซึ่งอนุภาคนาโนนั้นได้รับความนิยมในหลากหลายงานวิจัย ในการนำมาใช้เพื่อกระตุ้นสัญญาณหรือพัฒนาคุณภาพของไฟเบอร์ออปติกซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวขยายสัญญาณ เนื่องจากขั้นตอนการเตรียมที่ง่ายและการที่มีสมบัติทางแสงขึ้นกับขนาดของอนุภาค ทำให้สมบัติการดูดกลืนเปลี่ยนไปเมื่อขนาดเปลี่ยนไป และยิ่งไปกว่านั้นการอาศัยปรากฏการณ์ โลกคอลโลสซ์เซอเฟสพลาสมอนเรโซแนนซ์ (localized surface plasmon resonance: LSPR) ซึ่งเป็นปรากฏการณ์ชนิดหนึ่งของเซอเฟสพลาสมอนเรโซแนนซ์ (surface plasmon resonance: SPR) (29) โดยจะเป็นตัวกระตุ้นให้เกิดสัญญาณการเปลี่ยนแปลงที่มากขึ้น ซึ่งเป็นสมบัติหนึ่งของสารประกอบนาโนโลหะออกไซด์ การเพิ่มวัสดุนาโนเหล่านี้ไปขยายสัญญาณในการตรวจวัด ทำให้ประสิทธิภาพของไฟเบอร์ออปติกเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (limit of detection; LOD) มีค่าต่ำลง และค่าความไวในการตรวจวัด (sensitivity) ที่เพิ่มมากขึ้น ตามที่งานวิจัยจำนวนมากได้ศึกษาไว้ (30-34)

ตารางที่ 2.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้งานไฟเบอร์ออปติกเซนเซอร์

Bioreceptor (ตัวตรวจจับ)	Analyte (สารที่ตรวจวัด)	Nano- structure (อนุภาคนาโน)	Mode of detection (การตรวจวัด สัญญาณ)	Details (รายละเอียด)	Ref.
Antibody	Staphylo- coccal enterotoxin B	-	fluorescence	Linearity : 5 to 200 ng/ml LOD : 0.5 ng/ml in buffer Response time : quantitative : 45 min qualitative : 15-20 min	(21)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

13mer oligo-nucleotides	DNA target	-	fluorescence	LOD : 30 fM (3.2 attomoles)	(22)
-	<i>Bacteria</i> : <i>Escherichia coli</i> O157:H7	-	evanescent-field coupling (absorption)	- A correlation between optical response and the current number of bacteria was achieved - The device sensitivity had been calibrated for initial number of bacteria (N_0) from 10–800. The sensor sensitivity was 0.016 (± 0.001) dB/h/ N_0 . - five to ten times faster than conventional bacteriological techniques.	(23)
-	total protein concentration	-	absorption	-The evanescent waves from the optical fibers excited and sensed the presence of protein via color changes in the dye-immobilized porous-glass - the dye-protein interaction at the sol-gel thin film, which caused a shift in the absorption peak maximum from 467 nm to 590 nm - response time about 10 to 15 min	(24)
antibody	<i>Listeria monocytogenes</i> cells		fluorescence	- sensitivity : about 4.3×10^3 CFU/ml for a pure culture - response time : within 2.5 h - LOD : 2.8×10^7 CFU/ml	(25)
-	hydrogen sulfide gas	ZnO	surface plasmon resonance	- Fiber based sensor probes were prepared by using silver metal, zinc oxide thin film and zinc	(26)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

			(SPR) and lossy mode resonance (LMR)	oxide nanoparticles for sensing of hydrogen sulfide gas - the properties of nanoparticles could be controlled by various parameters such as size, shape, etc. - The SPR probe prepared by coating silver and zinc oxide films over unclad core of the fiber possesses much lower sensitivity - LMR probe is more selective to hydrogen sulfide gas than the other gases tested.	
molecular imprint : melamine as template molecule	Melamine	thin film of silver	surface plasmon resonance	concentration range from 10^{-7} M to 10^{-1} M with a shift of 19 nm in resonance wavelength	(27)
antibody	orchid viruses : Cymbidium mosaicvirus (CymMV) or Odontoglossum ringspotvirus (ORSV)	Gold	particle plasmon resonance	LODs: for CymMV and ORSV in leaf saps are 48 and 42 pg/mL which are better than the LODs of 1200 pg/mL for both viruses obtained by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) Response time : 10 min,	(28)

จากงานวิจัยที่กล่าวมาข้างต้น พบว่ามีการประยุกต์ใช้ไฟเบอร์ออปติกในงานไบโอเซนเซอร์เพื่อตรวจวัดสารในรูปแบบที่หลากหลาย ไม่ว่าจะเป็นแบคทีเรีย หรือ whole cell และการประยุกต์ใช้ในด้านการศึกษาเพื่อตรวจวัดโปรตีน ดีเอ็นเอ ต่างๆ (ตารางที่ 2.1) และการใช้ไฟเบอร์ออปติกร่วมกับอนุภาคทองคำนาโน (ตารางที่ 2.2) โดยแต่ละงานวิจัยมีการเลือกใช้โหมดการทำงานหรือการส่งสัญญาณของไฟเบอร์ออปติกที่แตกต่างกันไป เช่น วัดค่าการเปลี่ยนแปลงของดัชนีหักเหของสาร, การดูดกลืนแสง, ฟลูออเรสเซนซ์ หรือเอสพีอาร์ ซึ่งจะขึ้นกับ set up อุปกรณ์ไฟเบอร์ออปติก และลักษณะของโมเลกุลของสารที่ทำการตรวจวัด ดังนั้นจะเห็นว่าไฟเบอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ออปติกมีการใช้งานที่หลากหลายเหมาะที่จะพัฒนาให้เป็นเซนเซอร์สำหรับตรวจวัดสารต่างๆ ได้ โครงการวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาและพัฒนาไฟเบอร์ออปติกเซนเซอร์ให้เป็นอุปกรณ์อย่างง่าย สามารถสร้างเองได้ในห้องปฏิบัติการเพื่อใช้ในการตรวจวัดสารชีวโมเลกุลหรือสารเคมี โดยการเพิ่มประสิทธิภาพการตรวจวัดด้วยการเคลือบแกนไฟเบอร์ที่เป็นแก้วด้วยอนุภาคทองคำนาโนซึ่งจะทำให้ได้เซนเซอร์ที่มีความไวสูง ใช้ปริมาณสารน้อย เครื่องมือจัดเตรียมง่ายไม่ซับซ้อน และมีแนวโน้มที่จะพัฒนาให้เป็นอุปกรณ์พกพาได้ และอาจนำไปใช้ในเชิงอุตสาหกรรมได้เนื่องจากสามารถส่งสัญญาณได้ระยะไกล

ตารางที่ 2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้งานไฟเบอร์ออปติกเซนเซอร์ร่วมกับอนุภาคทองคำนาโน

Analyte	Mode of Detection	Nanostructures	Limit of Detection	Sensitivity	Respond time	Ref.
Ni ²⁺ & Streptavidin & Staphylococcal	absorbance	GNPs	Ni ²⁺ 1.7x10 ⁻⁵ M Streptavidin 7.8x10 ⁻¹⁰ M Staphylococcal 0.04 ng/mL	not given	not given	(30)
Cy5 antigen	fluorescence	GNPs	1pg/mL	10 ⁵ fold	not given	(32)
Anti-DNP, Anti-biotin & Streptavidin	microfluidic and evanescent wave (absorbance)	GNPs	1.2x10 ⁻¹² M (33 fold), 3.3x10 ⁻⁹ M (16 fold) and 1.1x10 ⁻¹¹ M (9 fold), respectively	not given	294, 279, and 169 seconds, respectively	(35)
Human IgG antibody	evanescent wave (absorbance)	GNRs and GNPs	both 1.6 nM	GNRs 601 nm/RIU GNPs 914 nm/RIU	not given	(36)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3 วิธีการทดลอง

3.1 การสังเคราะห์อนุภาคทองคำนาโน (Gold nanoparticles: GNPs) (37)

นำสารละลาย 0.01% HAuCl_4 ในน้ำปilotประจุ (Deionized water: DI water) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ไปให้ความร้อนและกวนด้วยแท่งแม่เหล็ก ที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส จนกระทั่งสารละลายเดือด หลังจากนั้นเติมสารละลาย 1% TSC ที่ปริมาตรต่าง ๆ คือ 0.5 1 1.8 และ 3 มิลลิลิตรลงไป รอจนกระทั่งสารละลายเริ่มเปลี่ยนจากสี จึงหยุดการให้ความร้อนทันที แต่ยังคงกวนต่ออีก 15 นาที จนสารละลายเริ่มเปลี่ยนเป็นสีแดงมากขึ้น และเก็บไว้ในภาชนะที่บแสงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.2 การเตรียมสารเคลือบแอสเซมบลีโมโนเลเยอร์ (Self-assembled monolayer: SAM) (38)

สารละลาย SAM ที่ใช้มีชื่อว่า (3-Aminopropyl)triethoxysilane; APTES โดยทำการเตรียม 5%v/v APTES ในเมทานอลปริมาตร 100 มิลลิลิตร ซึ่งเป็นตัวทำละลาย โดยทำการผสม APTES ปริมาตร 3 มิลลิลิตร และ กรดอะซิติก (CH_3COOH) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ในเมทานอล ตั้งทิ้งไว้นาน 25-30 นาที เพื่อทำการ hydrolyze APTES ที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) ดังแสดงในรูปที่ 3.1

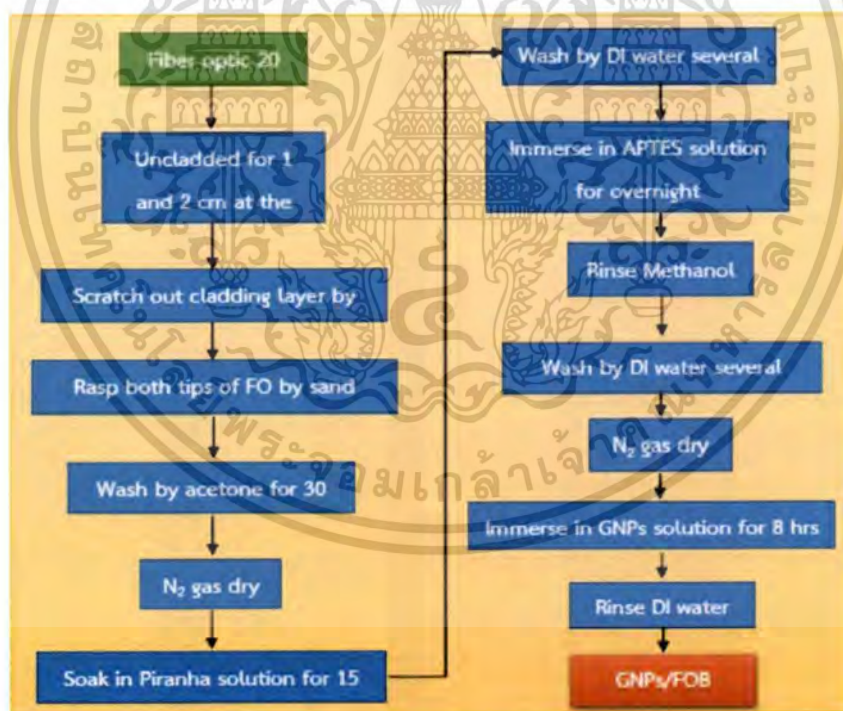


รูปที่ 3.1 แสดงขั้นตอนการเตรียมสารละลาย APTES

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

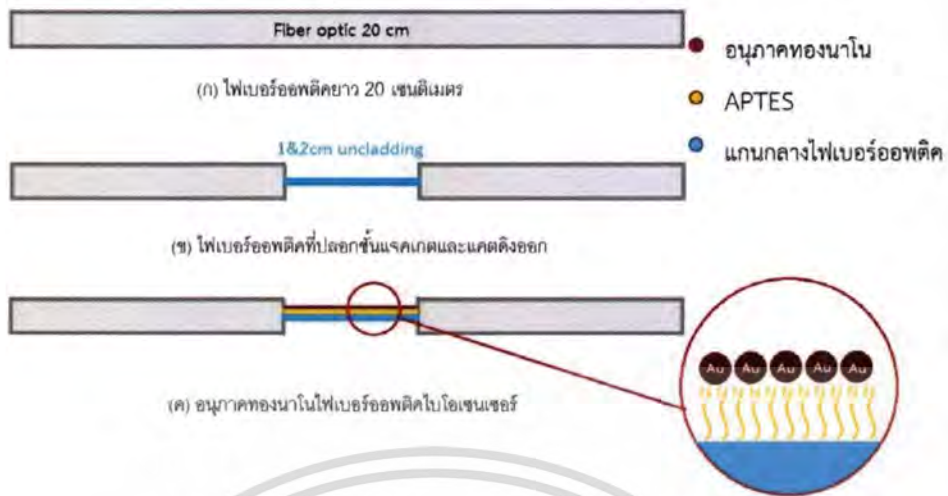
3.3 การเตรียมอนุภาคทองนาโนไฟเบอร์ออปติกไบโอเซนเซอร์ (GNPs/FOB)

โดยแผนผังวิธีการเตรียมไฟเบอร์ที่เคลือบด้วยอนุภาคทองนาโนทั้งหมดแสดงดังรูปที่ 3.2 โดยจะเริ่มจากการเตรียมไฟเบอร์ออปติกซึ่งเป็นไปตามงานวิจัยหลาย ๆ งานก่อนหน้า [28] ทำการตัดสายไฟเบอร์ออปติกความยาวประมาณ 20 เซนติเมตร (รูปที่ 3.3 (ก)) และลอกส่วนแคลดดิ้ง (Cladding) และแจคเกต (Jacket) ของสายไฟเบอร์ออปติกบริเวณตรงกลางออก ประมาณ 1 และ 2 เซนติเมตร ให้เหลือแต่แกนกลางซึ่งเป็นแก้ว (glass) ของสายไฟเบอร์ออปติก ด้วยการใช้อุปกรณ์การลอกไฟเบอร์ออกอย่างระมัดระวัง จะได้ดังรูปที่ 3ข ทำการขูดชั้นแคลดดิ้งออก หลังจากนั้นนำไปแช่ในอะซิโตน (acetone) เป็นเวลา 30 นาที และเป่าแห้งด้วยก๊าซไนโตรเจน จากนั้นทำความสะอาดและสร้างชั้นออกไซด์มากขึ้นตรงส่วนที่เป็นแกนแก้วไฟเบอร์ออปติก โดยการแช่ในสารละลายกรด (Piranha solution) $H_2SO_4 : H_2O_2$ ในอัตราส่วน 70 : 30 เป็นเวลาประมาณ 15 นาที แล้วล้างด้วยน้ำ DI จากนั้นนำแกนกลางของไฟเบอร์ไปแช่ในสารละลาย APTES เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วทำการล้างด้วยเมทานอล และ DI และเป่าแห้งด้วยก๊าซไนโตรเจน หลังจากนั้นนำแกนกลางไฟเบอร์ไปแช่ต่อในสารละลายอนุภาคทองนาโนเป็นเวลา 8 ชั่วโมง ทำให้เกิดการเคลือบของชั้นอนุภาคทองนาโนบนผิวแก้วไฟเบอร์ออปติกซึ่งมีโครงสร้างแต่ละชั้น ดังแสดงในรูปที่ 3.3 (ค)



รูปที่ 3.2 แผนผังแสดงขั้นตอนการเตรียมไฟเบอร์และการสร้างชั้น self assemblemonolayer (SAM) ด้วย APTES และต่อด้วยการเคลือบอนุภาคทองนาโนบนไฟเบอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.3 ขั้นตอนการเตรียมอนุภาคนาโนใยแก้วนำแสงโอบล้อมด้วยไอเซนเซอร์ (GNPs/FOB)

3.4 การทดสอบประสิทธิภาพใยแก้วนำแสงในสารละลายกลีเซอรอล

การทดสอบนี้เพื่อหาค่าความไวของใยแก้วนำแสงเซนเซอร์ที่ถูกสร้างขึ้น โดยทำการเตรียมสารละลายกลีเซอรอลที่มีความเข้มข้นต่างๆ ในช่วง 0.1 - 50% ในสารละลายฟิโอสบิฟเฟอร์ ซึ่งมีค่าดัชนีหักเหของสารแตกต่างกันในช่วง 1.3349 - 1.3915 RIU (refractive index unit) นำเซนเซอร์ไปวัดในสารละลายกลีเซอรอลที่เตรียมขึ้น และวัดค่าความเข้มแสง จากนั้นนำไฟพลอตกราฟระหว่างค่าดัชนีหักเหของสาร และ ค่าสัญญาณความเข้มแสงที่วัดได้ เพื่อหาค่าความไวของเซนเซอร์จากความชันของกราฟ

3.5 การทดสอบประสิทธิภาพใยแก้วนำแสงเซนเซอร์สำหรับตรวจวัดสารตัวอย่างโปรตีน

3.5.1 การตรึงแอนติบอดี

โดยการทดสอบนี้จะแสดงตัวอย่างการตรวจวัดคู่โปรตีนของแอนติบอดีและแอนติเจนในการตรวจวัดหมู่เลือดระบบเอบีโอ ซึ่งส่วนแรกต้องทำการเตรียมพื้นผิวเซนเซอร์ให้มีความสามารถในการตรวจจับแอนติเจนบนผิวเม็ดเลือดแดง โดยการตรึงแอนติบอดีชนิดเอบนใยแก้วนำแสงที่เคลือบด้วยอนุภาคนาโนแล้ว ซึ่งงานวิจัยก่อนหน้านี้จำนวนหนึ่งได้กล่าวถึงวิธีการตรึงแอนติบอดีบนพื้นผิวของอนุภาคนาโน เพื่อเป็นตัวจับกับคู่แอนติเจน [28] ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้แอนติบอดีเอในการตรวจวัด โดยนำใยแก้วนำแสงทำ ออกซิเจนพลาสติก ระดับ Medium นาน 5 นาที เพื่อสร้างชั้น -OH บนพื้นผิว หลังจากนั้น แช่ GNPs/FOB ในสารละลาย 10 mM ของ 11-MUA ในเอทานอล ทิ้งไว้ทำปฏิกิริยาข้ามคืน เพื่อสร้างหมู่คาร์บอกซิลิกบนพื้นผิวของอนุภาคนาโน หลังจากนั้นล้างด้วยเอทานอล และ 0.01 M PBS บัฟเฟอร์ pH 7.4 เพื่อขจัดโมเลกุล MUA ที่ไม่

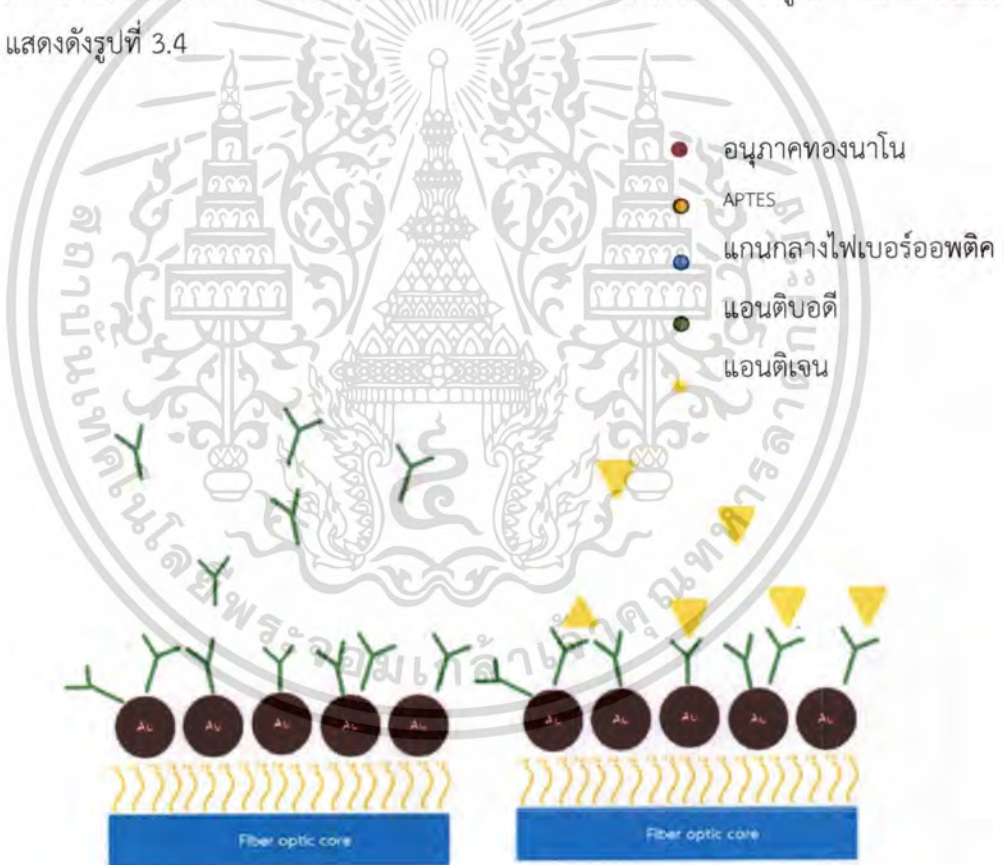
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถยึดติดได้ นำเซนเซอร์ที่ได้ไปแช่ในสารละลายผสมระหว่าง EDC และ NHS ในสัดส่วนความเข้มข้น 4:1 และในสัดส่วน 1:1 โดยปริมาตร นาน 15 นาที และล้างด้วย PBS บัฟเฟอร์ pH 7.4 จากนั้นเตรียมสารละลายแอนติบอดีเอ (Ab-A) 5% ในโซเดียมอะซิเตท pH 5.3 นำสารละลายที่ได้ไปแช่ GNPs/FOB จากขั้นตอนข้างต้น นาน 15 นาที และล้างด้วยสารละลาย PBS หลังจากนั้นทำการบล็อกพื้นผิวของ Ab-A/GNPs/FOB ที่ไม่มี Ab อยู่ด้วยสารละลาย Ethanolamine pH 8.5 นาน 10 นาที

จากนั้นจะได้เซนเซอร์ Ab-A/GNPs/FOB ที่พร้อมนำไปใช้ในการตรวจวัดแอนติเจนบนผิวเม็ดเลือดแดง

3.5.2 การเตรียมสารละลายแอนติเจนของหมู่เลือด ABO

นำสารละลายตัวอย่างเลือด ABO อย่างละ 1 มิลลิลิตร ผ่านการปั่นเหวี่ยง ที่ 4500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 4 นาที หลังจากนั้น ตั้งตะกอนที่เกิดขึ้นละลายในสารละลาย PBS ในสัดส่วน 3 5 และ 10% โดยปริมาตร หลังจากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปทำการวัดกับ Ab-A/GNPs/FOB ในระบบที่เตรียมไว้ ซึ่งรูปภาพแสดงเซนเซอร์ที่พร้อมใช้งาน แสดงดังรูปที่ 3.4

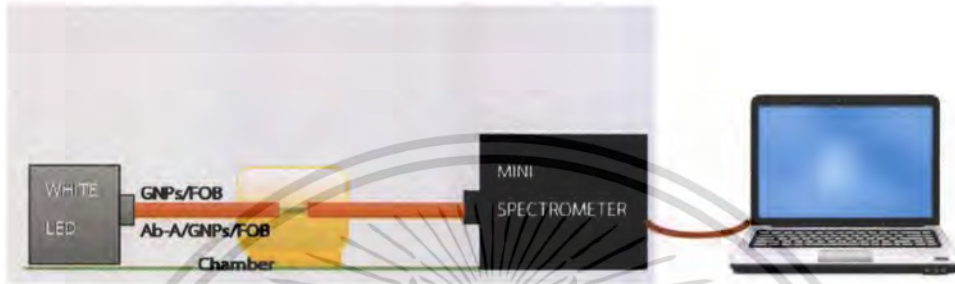


รูปที่ 3.4 (ก) โครงสร้างของ Ab/GNPs/FOB (ข) โครงสร้างของ Ab/GNPs/FOB เมื่อมีแอนติเจนในระบบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.3 การตรวจวัดและวิเคราะห์ผล

ระบบการตรวจวัดใช้การจัดเตรียมเครื่องมือวัดทางแสงโดยใช้แสงขาว ที่อุณหภูมิ 5500K เป็นแสงกระตุ้นต่อเข้ากับไฟเบอร์ออปติกไบโอเซนเซอร์และวัดการเปลี่ยนแปลงด้วย Hamamatsu mini-spectrometer โดยระบบทั้งหมดอยู่ในสภาวะทึบแสง และทำการวัดที่อุณหภูมิห้อง ชุดอุปกรณ์ตรวจวัดแสดงดังรูปที่ 3.5



รูปที่ 3.5 ระบบการตรวจวัด GNP/FOB

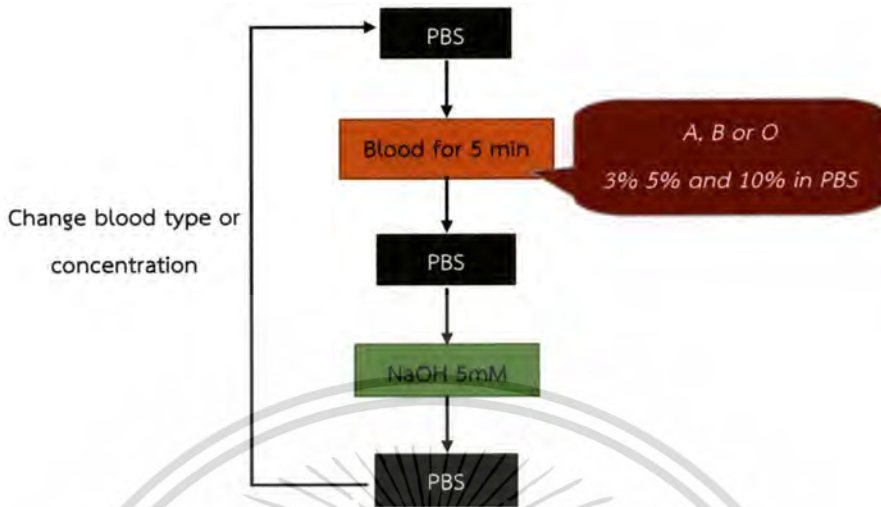
3.5.4 การทดสอบ Ab-A/GNPs/FOB กับสารชีวโมเลกุลตัวอย่าง หมู่เลือด ABO

3.5.4.1 การทดสอบการดูดกลืนแสง (Absorbance) ของสารละลายตัวอย่างหมู่เลือด ABO

นำสารละลายเลือดตัวอย่างไปวัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis spectrometer

3.5.4.2 การทดสอบ Ab-A/GNPs/FOB กับสารตัวอย่างเลือดหมู่ ABO

ในการทดลองนี้ นำเอาเซนเซอร์ที่ได้มาวัดกับสารละลายของเลือดหมู่ A B และ O ที่ความเข้มข้น 3, 5 และ 10% โดยปริมาตร เพื่อตรวจสอบความจำเพาะเจาะจงในการตรวจวัดของเซนเซอร์ ซึ่งจะตรวจวัดสลับกับสารละลาย PBS ซึ่งในการเปลี่ยนเลือดแต่ละครั้งจะใช้ NaOH 5 มิลลิโมลาร์ ในการแยกแอนติเจนออกจากระบบ หลังจากนั้นจะทำการล้างด้วย สารละลาย PBS 2 ครั้งก่อนที่จะเริ่มตรวจวัดตัวอย่างเลือดชนิดถัดไป ขั้นตอนตามรูปที่ 3.6



รูปที่ 3.6 แสดงขั้นตอนการวัดโปรตีนหมู่เลือด

3.6 การสังเคราะห์อนุภาคทองคำนาโนแบบแท่ง (GNRs)

3.6.1 ขั้นตอนการเตรียมสารละลายตั้งต้น

1) ผสมสารละลายเซทิลไตรเมทิลแอมโมเนียมโบรไมด์ (Cetyl trimethylammonium bromide; CTAB) ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร กับ สารละลายไฮโดรเจนเตตระคลอโรอูเรต (HAuCl_4) ความเข้มข้น 0.005 โมลาร์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร

2) เติมสารละลายโซเดียมโบโรไฮไดรด์ (NaBH_4) ความเข้มข้น 0.001 โมลาร์ ปริมาตร 30 ไมโครลิตรลงในสารละลายผสม

3) กวนผสมสารละลายเป็นเวลา 2 นาที หลังจากนั้นเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

3.6.2 ขั้นตอนการเตรียมสารละลายทองคำทำแบบแท่ง

1) ผสมสารละลาย CTAB ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ปริมาตร 30 มิลลิลิตร กับสารละลายไฮโดรเจนเตตระคลอโรอูเรต (HAuCl_4) ความเข้มข้น 0.001 โมลาร์ ปริมาตร 30 มิลลิลิตร

2) เติมสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต (silver nitrate; AgNO_3) ความเข้มข้น 0.02 โมลาร์ ปริมาตร 120 ไมโครลิตร, 200 ไมโครลิตร และ 240 ไมโครลิตร

3) เติมสารละลายกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) ความเข้มข้น 0.788 โมลาร์ ปริมาตร 420 ไมโครลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4) เติมสารละลายตั้งต้น ปริมาตร 37.5 ไมโครลิตร ลงในสารละลายผสม (ข้อที่ 1) - 3))

5) เก็บสารละลาย ไว้ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 33.6 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดการสร้างอนุภาคนาโนทองแบบแท่ง

3.7 การเคลือบอนุภาคทองนาโนแบบแท่งลงบนพื้นผิวไฟเบอร์

3.7.1) ตัดสายไฟเบอร์ให้มีขนาดความยาว 15 เซนติเมตร และทำการ unclad ส่วนตรงกลางไฟเบอร์ เพื่อให้เจอชั้นพื้นผิวแก้ว

3.7.2) ทำความสะอาดพื้นผิวแก้วด้วยอะซิโตน เป็นเวลา 30 นาที ต่อดำเนินการกัดกรดด้วยสารละลาย $H_2SO_4 : H_2O_2$ ในอัตราส่วน 70:30 โดยปริมาตร

3.7.3) ล้างด้วยน้ำและเป่าให้แห้ง

3.7.4) แช่ไฟเบอร์ในสารละลาย 5% MPTMS [(3-Mercaptopropyl)trimethoxysilane] ในเอทานอล เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.7.5) ล้างด้วยเอทานอล พร้อมกับการสั่นด้วยความถี่สูงเป็นเวลา 30 วินาที

3.7.6) แช่ไฟเบอร์ในสารละลาย GNRs ที่ได้สังเคราะห์ขึ้น แช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.8 การทดสอบ GNRs/FOB ในสารละลายที่มีค่าดัชนีหักเหที่แตกต่างกัน

3.8.1 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองนาโนแบบแท่ง (GNRs)

นำสารละลายอนุภาคทองนาโนแบบแท่งที่สังเคราะห์ได้ ไปวัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis spectrometer

3.8.2 การทดสอบหาความไวของไฟเบอร์ออปติกที่เคลือบ GNRs

ทำการทดสอบเหมือนในหัวข้อที่ 3.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

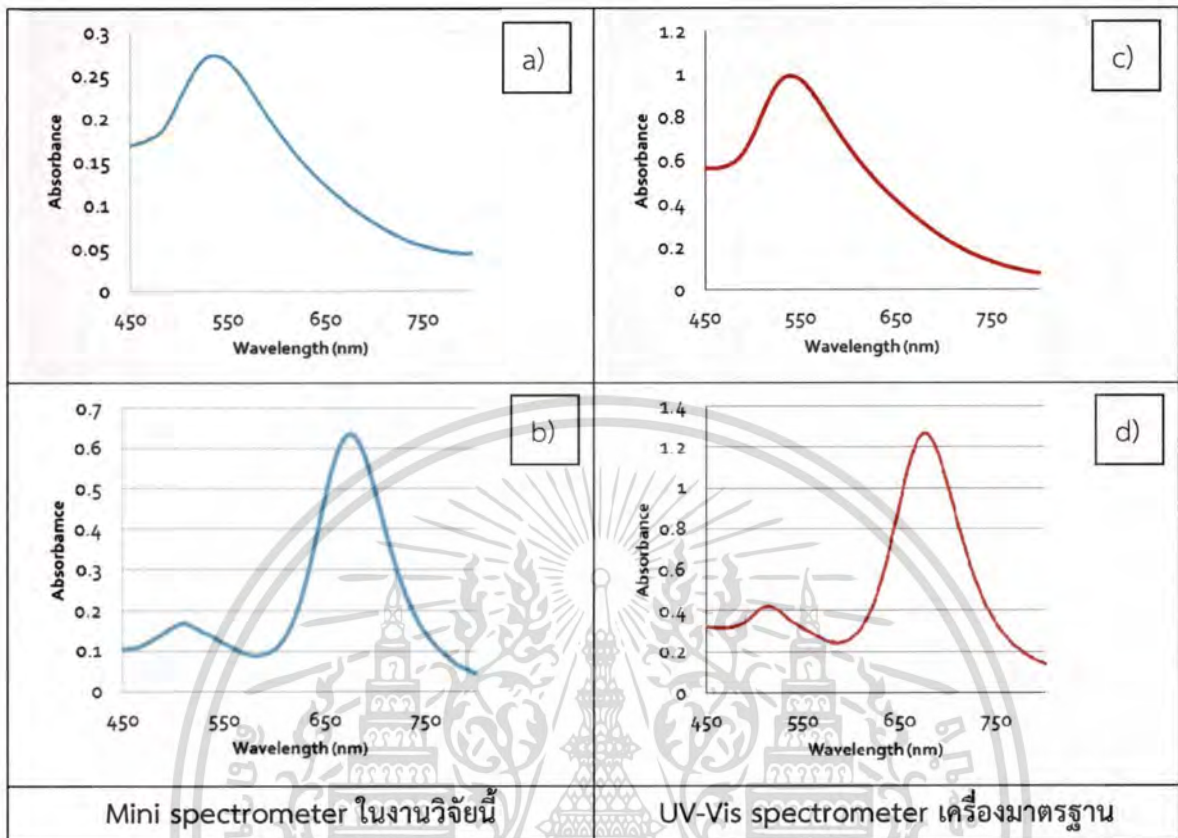
ผลการทดลอง

ในงานวิจัยนี้มุ่งหมายในการพัฒนาและศึกษาไฟเบอร์ออปติกนาโนไบโอเซนเซอร์ (FOB) โดยการใช้อนุภาคทองคำนาโน (GNPs) ในการเพิ่มประสิทธิภาพ ซึ่งผลการทดลองทั้งหมดสามารถแบ่งเป็น 3 ส่วนดังต่อไปนี้

4.1 การติดตั้งและสอบเทียบเครื่อง Spectrometer ในระบบ

ในการทดลองใช้ระบบการวัดที่ติดตั้งและสอบเทียบขึ้นเอง โดยใช้ White LED 5500K เป็น Light source และ Hamamatsu mini-spectrometer เป็นตัวรับสัญญาณ ดังข้อมูลในบทที่ 3 จากการทดสอบเครื่อง โดยใช้ระบบการตรวจวัดแบบการตรวจวัดการดูดกลืนแสง ซึ่งได้ออกแบบการทดลองโดยเทียบผลที่ได้ กับ เครื่อง UV-visible spectrometer โดยใช้สารตัวอย่างเป็น สารละลาย Gold nanoparticles และ Gold nanorods เพื่ออาศัยสมบัติการดูดกลืนแสงเพื่อสร้างโปรไฟล์ในการเปรียบเทียบ ซึ่งพิจารณาในแง่ของตำแหน่งการดูดกลืนแสงสูงสุด ความกว้างของกราฟ และความคมชัดของกราฟโดยรวม ซึ่งได้ผลดังนี้

ในรูปที่ 4.1 เมื่อเปรียบเทียบลักษณะของกราฟแล้ว ลักษณะของกราฟที่มาจาก การวัดสองแบบ มีความใกล้เคียงกันอย่างมาก แตกต่างเพียงค่าความเข้มของสัญญาณที่ออกมา ซึ่งการวัดด้วยเครื่องมือ UV-visible spectroscopy จะได้ค่าความเข้มที่สูงกว่าทั้งสองสารละลาย และบริเวณที่ถูกดูดกลืนสูงสุดของแต่ละกราฟเป็นไปตามตารางที่ 4.1 ซึ่งสามารถชี้ได้ว่า ทั้งสองวิธีให้ช่วงการดูดกลืนที่ใกล้เคียงกันมาก มีค่าคลาดเคลื่อน 2.38 ± 1.20 นาโนเมตร



รูปที่ 4.1 การดูดกลืนแสงเปรียบเทียบระบบในงานวิจัยนี้ กับ เครื่อง UV-visible spectrometer มาตรฐาน โดย a) กับ b) เป็นการวัดสารละลาย GNPs และ GNRs จากเครื่อง mini spectrometer และ c) กับ d) เป็นการวัดสารละลาย GNPs และ GNRs จากเครื่อง UV-visible spectrometer มาตรฐาน

ตารางที่ 4.1 เปรียบเทียบความยาวคลื่นที่ดูดกลืนของสารละลาย GNPs และ GNRs ระหว่างระบบในงานวิจัย และเครื่อง UV-visible spectroscopy

สารตัวอย่าง	ความยาวคลื่นแสงที่ดูดกลืน (nm)	
	Mini spectrometer ในงานวิจัยนี้	UV-Vis spectrometer เครื่องมาตรฐาน
Gold nanoparticles (GNPs)	537.18	541
Gold Nanorods (GNRs)	510.65 , 675.53	514 , 677

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ลักษณะและสมบัติทางแสงของอนุภาคทองคำนาโน (GNPs)

ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาการสังเคราะห์ GNPs โดยอาศัยปฏิกิริยารีดักชันระหว่างสารละลาย 0.01% w/w Chloroauric acid (HAuCl_4) กับ สารละลาย 1% w/w Trisodiumcitrate (TSC) ซึ่งปริมาณของสารละลาย TSC จะเป็นตัวกำหนดขนาดของ GNPs ซึ่งในการทดลองนี้ ใช้ปริมาณของสารละลาย TSC ดังนี้ 0.5, 1, 1.8 และ 3 มิลลิลิตร ซึ่งได้ผลดังนี้

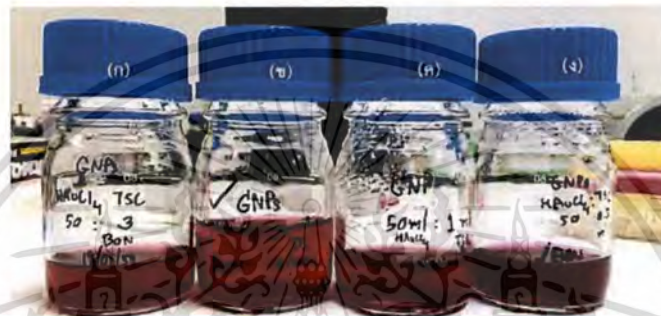
ตารางที่ 4.2 ขนาดของอนุภาคทองคำนาโนที่ความเข้มข้น 1% TSC ในปริมาตรต่างๆ

ปริมาตรของ 1 %TSC (mL)	ขนาดอนุภาคทองคำนาโน (nm)
0.5	41.0 ± 4.18
1	28.0 ± 2.47
1.8	20.0 ± 3.50
3	10.0 ± 2.11

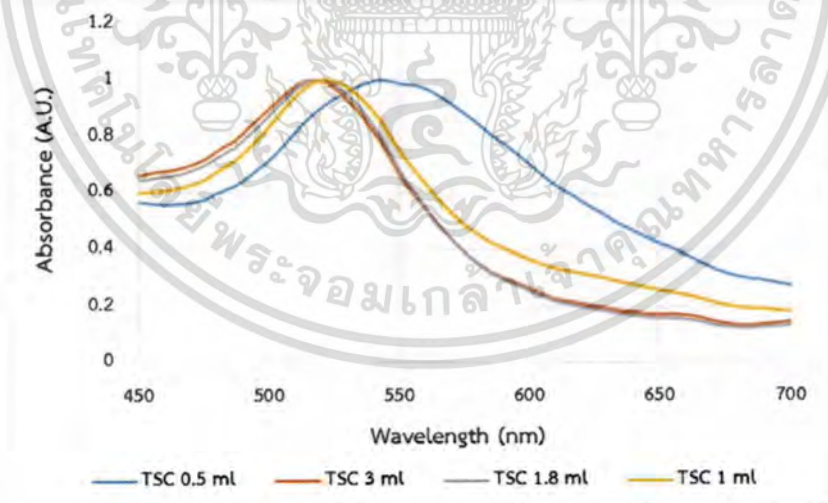
จากตารางที่ 4.2 พบว่า ขนาดของ GNPs เป็นสัดส่วนกับปริมาณของ TSC ที่อยู่ในระบบ นั่นคือ เมื่อเพิ่มปริมาณของ TSC เพิ่มมากขึ้น ขนาดหรือเส้นผ่านศูนย์กลางของ GNPs จะลดลง ซึ่งเห็นได้ว่า ที่ปริมาณ TSC เป็น 0.5 1 1.8 และ 3 มิลลิลิตร จะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ GNPs เป็น 41 ± 4.18 28 ± 2.47 20 ± 3.50 และ 10 ± 2.11 นาโนเมตร ตามลำดับ เมื่อเทียบกับงานวิจัยอ้างอิง (39-41) GNPs เมื่อยังมีขนาดเล็กจะทำให้มีค่าพลังงานพื้นผิวที่มาก (Surface Energy) เนื่องจากผลรวมประจุบวกบนพื้นผิวโมเลกุลมีค่าสูงมาก ซึ่งทำให้โมเลกุลของ GNPs นั้น เกิดความไม่เสถียรเป็นอย่างมาก ในการรักษาขนาดของ GNPs นั้น จึงใช้ประจุลบของโมเลกุล TSC เป็นสารในการรักษาเสถียรภาพ ดังนั้นการมีประจุลบหรือปริมาณ TSC ที่เพิ่มขึ้น ก็คือ การมีปริมาณอนุภาคที่เพิ่มขึ้น ทำให้สัดส่วนของทั้งสองประจุใกล้เคียงกันขึ้น ทำให้ขนาดของ GNPs ถูกจำกัดให้มีขนาดเล็กได้ จากสัดส่วนไอออนลบต่อไอออนบวกบนพื้นผิวที่เพิ่มขึ้น โดยขนาดของอนุภาคทองคำนาโนที่เปลี่ยนไปส่งผลถึง สีของสารละลาย และสมบัติทางแสงของ GNPs ดังแสดงในรูปที่ 4.2 และ 4.3 ตามลำดับ

ในการทดลองสังเคราะห์ทองคำนาโนขนาดต่างๆ โดยการกำหนดขนาดของอนุภาคทองคำนาโนจะได้สารละลายอนุภาคทองคำนาโนสีต่างๆ ออกมาดังรูปที่ 4.2 จะเห็นว่า เมื่อใส่สารละลาย 1%TSC 0.5 มิลลิลิตร (ง) จะมีสีออกเป็นสีม่วงแดง คล้ายคลึงกับสีไวน์แดง และจะมีสีแดงเข้มเรื่อยๆ เมื่อเพิ่มปริมาณสารละลาย TSC ที่ใส่เข้าไป ซึ่งในเงื่อนไขปริมาณสารละลาย 1%TSC เป็น 3 (ก) 1.8 (ข) และ 1 (ค) มิลลิลิตร ในสารละลาย 0.01%

HAuCl_4 50 มิลลิลิตร จะมีสีแดงที่ใกล้เคียงกัน และเมื่อทดสอบสมบัติการดูดกลืนแสงของสารละลาย GNPs จะได้ดังรูปที่ 4.3 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเมื่อลดปริมาณของ TSC ลง กราฟจะเกิดการดูดกลืนแสงในย่านแสงสีแดงมากขึ้น (Red shift) ดังตารางที่ 4.3 ซึ่งเป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ GNPs ที่ใหญ่ขึ้น นอกจากนี้พบว่าที่เงื่อนไข ปริมาณ TSC 0.5 มิลลิลิตร ช่วงการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองคำนาโนขยายมากขึ้น บ่งบอกถึงการรวมตัว (Aggregation) ของอนุภาคทำให้เริ่มสูญเสียสมบัติระดับนาโนของทองคำ คือ สีและพื้นที่ผิวสัมผัส และด้วยการที่ความจำเพาะเจาะจงของช่วงการดูดกลืนที่น้อยลง ทำให้เงื่อนไขนี้ไม่ถูกนำมาทดลองในการเคลือบพื้นผิวของไฟเบอร์ออปติก



รูปที่ 4.2 สีของอนุภาคทองคำนาโนที่สังเคราะห์ได้ เมื่อใช้ปริมาณสารละลาย 1%TSC เป็น 3 (ก), 1.8 (ข), 1 (ค), และ 0.5 มิลลิลิตร (ง) ต่อสารละลาย 0.01% HAuCl_4 50 มิลลิลิตร



รูปที่ 4.3 การดูดกลืนแสงของอนุภาคทองคำนาโนที่สังเคราะห์ได้ เมื่อใช้ปริมาณสารละลาย 1%TSC เป็น 3 (สีส้ม), 1.8 (สีเขียว), 1 (สีเหลือง) และ 0.5 (ฟ้า) มิลลิลิตร ต่อสารละลาย 0.01% HAuCl_4 50 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 การดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) ของ GNPs เจือในไซต่างๆ

ปริมาตรของ 1 %TSC (mL)	ความยาวคลื่นแสงที่ดูดกลืน ; λ_{max} (nm)
0.5	543.71
1	522.34
1.8	519.02
3	517.35

4.3 การตรึง GNPs บนผิวไฟเบอร์ออปติก และการทดลองผลของระยะเวลาในการปลูกไฟเบอร์ออปติกชั้นนอกออก

ในการทดลองกำหนดความยาวของส่วนที่ปลูกชั้น cladding ของไฟเบอร์ออปติกออกเป็น 1 และ 2 เซนติเมตร จากความยาวของเส้นไฟเบอร์ทั้งหมด 20 เซนติเมตร ที่มีการตรึงอนุภาคทองคำนาโน เปรียบเทียบกับเส้นไฟเบอร์ที่ไม่มีการตรึงอนุภาคทองคำนาโน และนำไปเคลือบ GNPs ที่ได้สังเคราะห์ขึ้น ในเจือไซ 1%TSC 1.8 mL โดยใช้ในการตรึงอนุภาคทองคำนาโนลงบนพื้นผิว โดยมีการปรับพื้นผิวด้วย APTES ซึ่งเป็นสารจากพวก Self-assembly monolayer หรือ SAM ใช้ในการตรึงอนุภาคทองคำนาโนบนผิวซิลิกา (core ของไฟเบอร์ออปติก) ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4.4 จะเห็นว่า เส้นไฟเบอร์ออปติกที่มีการตรึงอนุภาคทองคำนาโนมีของแข็งสีเข้ม สีม่วงดำติดอยู่บริเวณ core ที่ปลูกไว้เป็นจำนวนมาก ซึ่งแตกต่างกับเส้นที่ไม่ได้ตรึงอนุภาคทองคำนาโนที่จะสังเกตเป็นแก้วใสธรรมดาไม่มีอนุภาคหรือของแข็งใดๆ อยู่บนพื้นผิว



GNPs ATTACHED ON UNCLADDED SURFACE

รูปที่ 4.4 เส้นไฟเบอร์ออปติกที่ตรึงอนุภาคทองคำนาโน และไม่ได้ตรึงอนุภาคทองคำนาโน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

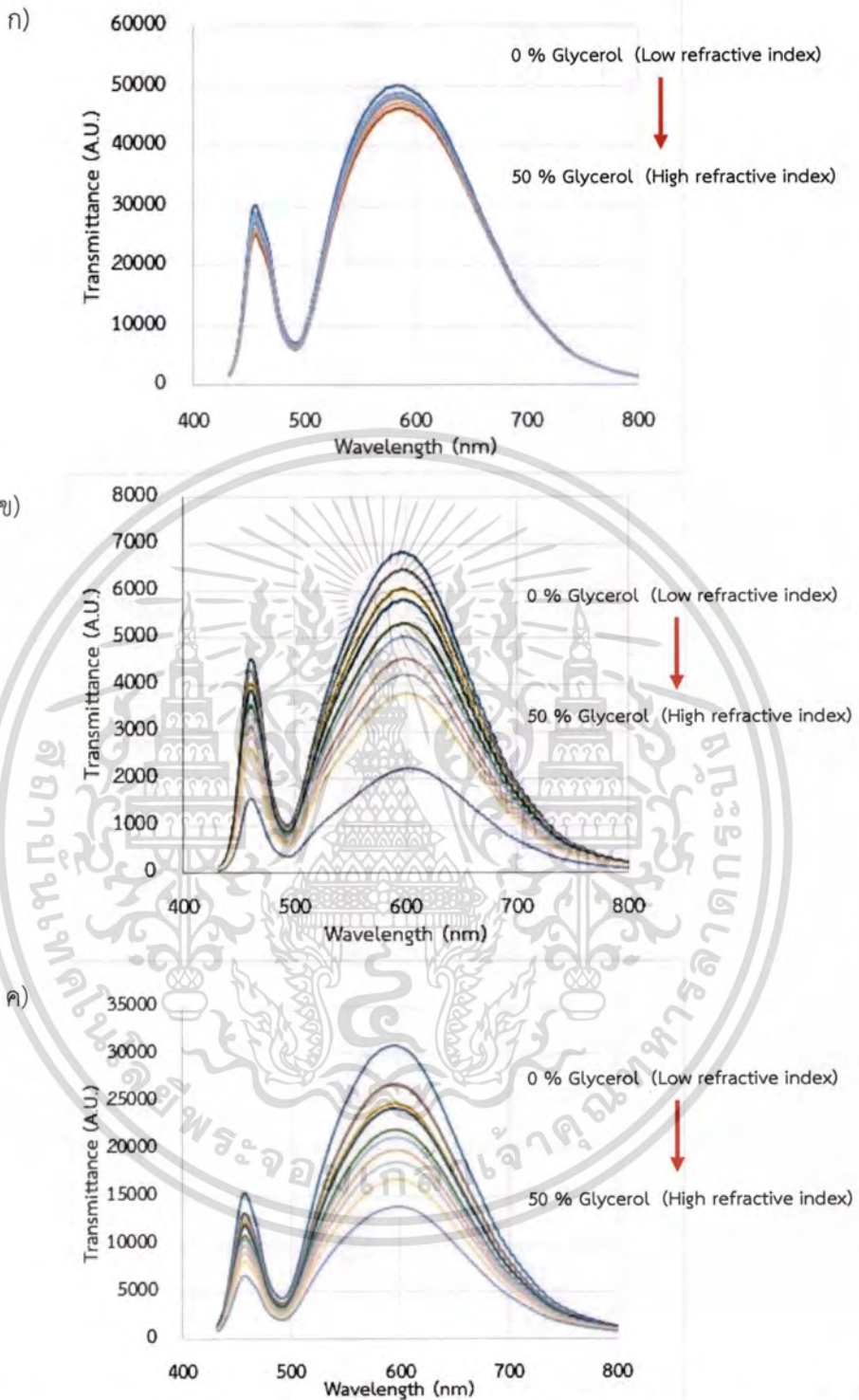
เมื่อนำ GNPs ตรึงอยู่บนพื้นผิวของแกนกลางไฟเบอร์ออปติกไปส่องในกล้องจุลทรรศน์ (Optical microscope) จะพบอนุภาคบนเส้นไฟเบอร์ที่สะท้อนแสงออกมาเป็นสีทอง ซึ่งที่กลายเป็นสีทองนั้นเกิดจากการที่ GNPs เกิดการรวมตัวกันทำให้มีขนาดใหญ่ขึ้นทำให้เริ่มแสดงสมบัติเดิมของทองออกมา ในขณะที่เงื่อนไขควบคุมเป็นเส้นไฟเบอร์ที่ไม่ได้ตรึงอนุภาคทองคำนาโนจะไม่พบอนุภาคใดๆ ที่เปล่งแสงออกมา ซึ่งสามารถยืนยันได้ว่ามี GNPs ตรึงอยู่บนพื้นผิวแกนกลางของไฟเบอร์ออปติก ดังแสดงในรูปที่ 4.5



รูปที่ 4.5 ภาพจาก Optical microscope แสดงพื้นผิว core ของ fiber optic (ก) core ไม่มีการตรึง GNPs (ข) core ยาว 1 เซนติเมตร ที่มีการตรึง GNPs (ค) core ยาว 2 เซนติเมตรที่มีการตรึง GNPs

จากนั้นได้นำไฟเบอร์ออปติกที่เตรียมขึ้นไปทดสอบวัดในสารละลายกลีเซอรอลที่มีค่าดัชนีหักเหแตกต่างกัน ซึ่งแสดงในรูปที่ 4.6 พบว่า ในเงื่อนไขที่ไม่มีการตรึงอนุภาคทองคำนาโน จะไม่สามารถสังเกตการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณที่ชัดเจน เมื่อค่าความเข้มข้นของกลีเซอรอลเพิ่มขึ้น ซึ่งหมายถึง ค่าดัชนีหักเหที่เพิ่มขึ้นตามไปด้วย ซึ่งในขณะเดียวกันในกรณี ที่มีการตรึง GNPs ลงบนพื้นผิวของแกนกลางไฟเบอร์ออปติกจะพบการลดลงของสัญญาณอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งที่ความยาว core 2 เซนติเมตร จะเกิดการเปลี่ยนแปลงมากกว่า core ความยาว 1 เซนติเมตรในระดับ 10 เท่า ซึ่งสามารถยืนยันได้ว่ามีปรากฏการณ์เกิดขึ้นและเกิดการเปลี่ยนแปลงตามทฤษฎี เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีหักเห จะมีผลให้สัญญาณของ SPR เปลี่ยนแปลงไป ซึ่งส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางแสง นั่นคือ การทะลุผ่านของแสง (Transmittance : T) ที่ลดลงหรือมีการดูดกลืนแสงที่มากขึ้นเมื่อค่าดัชนีหักเหของสารเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังยืนยันถึงประสิทธิภาพของอนุภาคทองคำนาโนในการเพิ่มประสิทธิภาพของไบโอเซนเซอร์ให้เพิ่มสูงขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 แสดงค่าการทะลุผ่าน (Transmittance : T) ของแสงเข้าสู่ตัวรับสัญญาณ (ก) core ที่ไม่มีการตรึง GNPs (ข) core ยาว 1 เซนติเมตร ที่มีการตรึง GNPs (ค) core ยาว 2 เซนติเมตร ที่มีการตรึง GNPs ที่วัดในสารละลายกลีเซอรอลที่ความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

GNPs/FOB ทั้งสองเงื่อนไขรวมถึง FOB ที่เป็นเงื่อนไขเปรียบเทียบ ผลของระยะเวลาการปลูกที่เพิ่มขึ้น แสดงถึงปริมาณของพื้นที่ผิวที่ GNPs สามารถไปยึดติดอยู่นั้นเพิ่มมากขึ้น นั่นคือ ปริมาณของ GNPs บนไฟเบอร์ เพิ่มสูงขึ้นทำให้สัดส่วนพื้นที่ผิวต่อปริมาตรเพิ่มสูงขึ้นอย่างมาก ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสองอย่างหลักๆ คือ ปริมาณของอิเล็กตรอนบนพื้นผิว GNPs สูงขึ้นอย่างทวีคูณ และ การที่สนามไฟฟ้าของ GNPs บนพื้นผิวมีความหนาแน่นสูงยิ่งขึ้น ทั้งสองเป็นการเปลี่ยนแปลงสำคัญที่มีผลโดยตรงต่อปริมาณการเกิดปรากฏการณ์ LSPR ที่เพิ่มมากขึ้น ซึ่งการเพิ่มขึ้นของ LSPR ส่งผลถึงการตอบสนองการเปลี่ยนแปลงของเซนเซอร์ที่เพิ่มสูงขึ้น โดยผลดังกล่าวถูกยืนยันด้วยผลของการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณที่เกี่ยวข้องกับผลของการเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีหักเห เมื่อเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของของกลีเซอรอล ดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ค่าดัชนีหักเหและการเปลี่ยนแปลงของค่าดัชนีหักเหของสารละลายกลีเซอรอลใน PBS ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเทียบกับดัชนีหักเหของ PBS

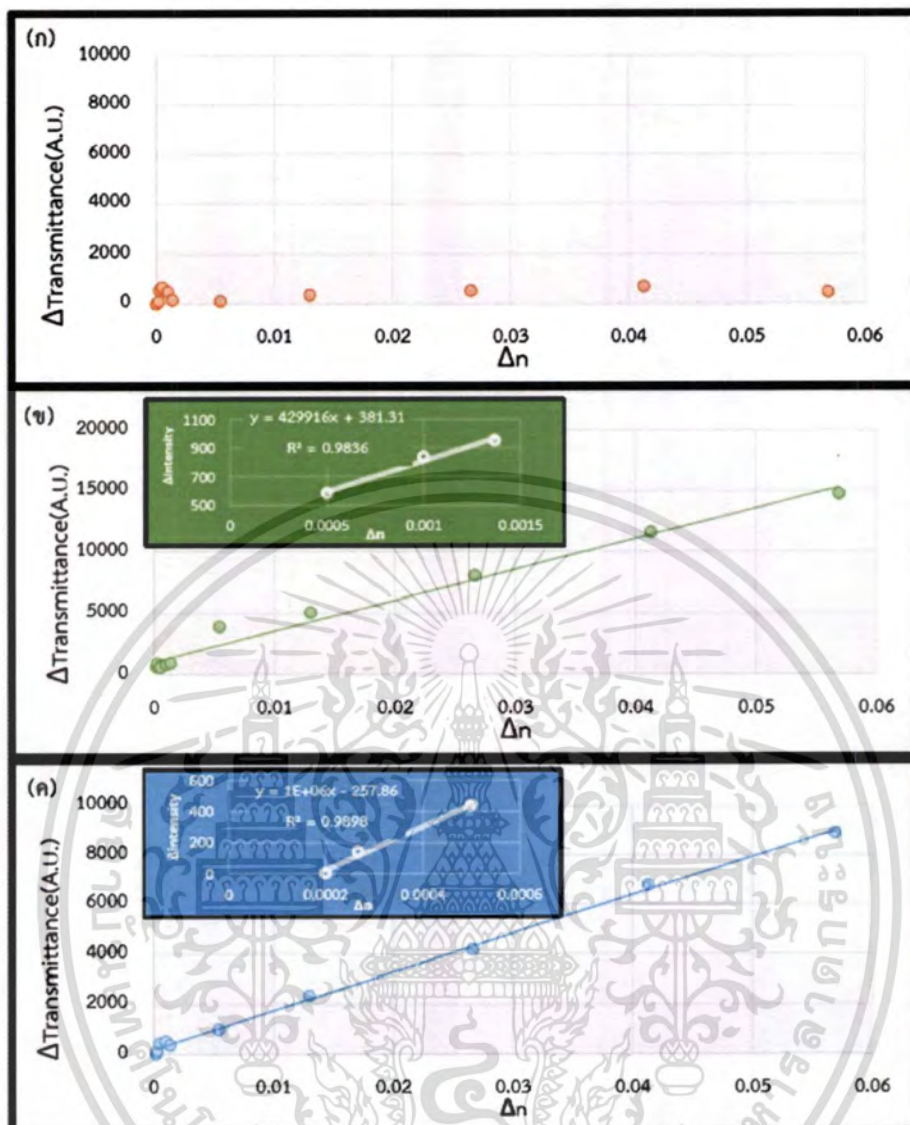
ความเข้มข้นของกลีเซอรอลใน PBS (%)	ดัชนีหักเห	Δn
PBS	1.3349667	0
0.1	1.3351333	0.00016667
0.2	1.3353333	0.00036667
0.5	1.3357	0.00073333
1	1.3363333	0.00136667
2	1.3378667	0.0029
5	1.3423333	0.00736667
10	1.3476667	0.0127
20	1.3613	0.02633333
30	1.3759667	0.041
50	1.3915667	0.0566
Glycerol	1.4717667	0.1368

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อนำค่าสัญญาณการเปลี่ยนแปลงทางแสงที่ได้ในแต่ละค่าดัชนีหักเหไปพลอตกราฟ ดังแสดงใน รูปที่ 4.7 พบว่า มีการเปลี่ยนแปลงเชิงเส้นที่มีหลายความชัน ในทั้งสองเงื่อนไขที่มีอนุภาคทองนาโน ยกเว้นเงื่อนไขควบคุม (Control) ที่ไม่มีการเคลือบด้วย GNPs ดังรูปที่ 4.7 (ก) ซึ่งไม่เห็นการเปลี่ยนแปลงอย่างเด่นชัดเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของกลีเซอรอลในสารละลาย PBS ซึ่งในอีกสองเงื่อนไข (ข) และ (ค) จะมีค่าความชันสองช่วง คือ ช่วงการเปลี่ยนแปลงช่วง 0.1% -2% Glycerol แสดงเป็นภาพเล็กที่แสดงอยู่ในรูปกราฟ และ ช่วง 5%-50% Glycerol การพิจารณาและวิเคราะห์จะวิเคราะห์เฉพาะกราฟในช่วงแรก เนื่องจากการตอบสนองของเซนเซอร์นั้นมีการตอบสนองที่เด่นชัดกว่าในการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้น ซึ่งก็คือการเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีหักเหเพียงเล็กน้อย ดังนั้นจึงมีค่าความชันของกราฟที่สูง โดยค่านี้สามารถอ้างอิงถึงค่าการตอบสนองหรือ sensitivity ได้ ซึ่งพบว่า เมื่อเพิ่มระยะการปลูกไฟเบอร์ออปติก จาก 1 เซนติเมตร รูปที่ 4.7 (ข) เป็น 2 เซนติเมตร รูปที่ 4.7 (ค) จะมีค่า sensitivity เพิ่มขึ้นจาก 10^5 เป็น 10^6 A.U./RIU ในขณะเดียวกันความเปราะของไฟเบอร์ออปติกก็จะเพิ่มสูงขึ้นด้วย ทำให้สามารถใช้งานเซนเซอร์ได้มากยิ่งขึ้น หากทำการปลูกแคลคิติงให้ยาวกว่านี้ ซึ่งการศึกษาในขั้นถัดไปจะทดสอบกับตรวจวัดสารที่เป็นโปรตีนเพื่อดูว่าเซนเซอร์สามารถใช้งานในการตรวจวัดได้หรือไม่



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



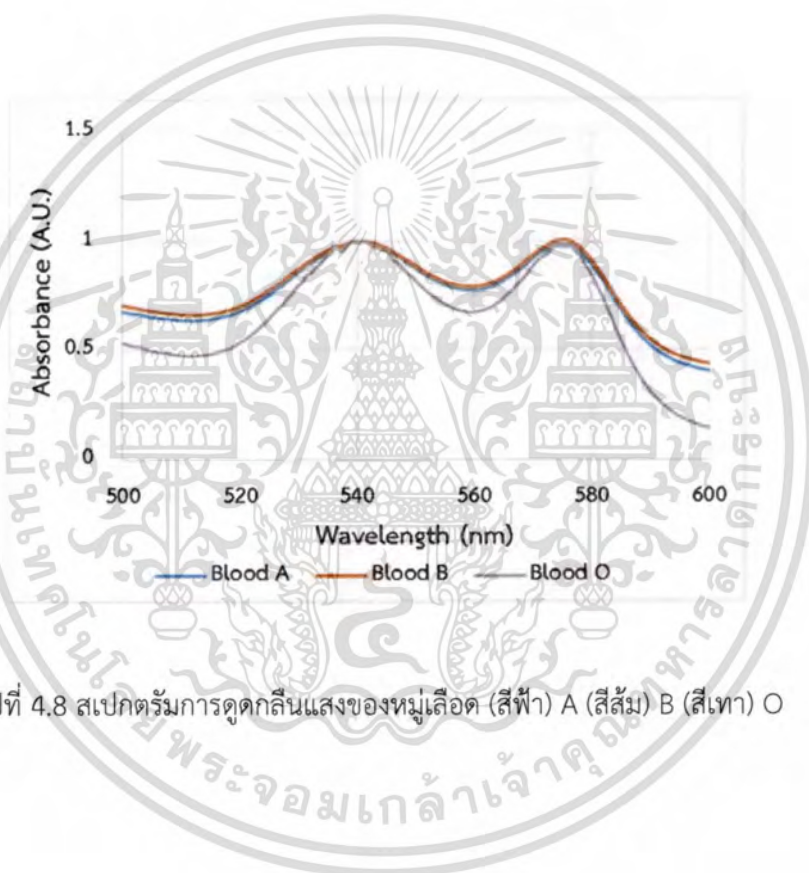
รูปที่ 4.7 การเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของสัญญาณต่อการเปลี่ยนแปลงดัชนีหักเห และ ค่า sensitivity ของเซนเซอร์ ก) core ไม่มีการตรึงGNPs ข) core ยาว 1 เซนติเมตร ที่มีการตรึง GNPs ค) core ยาว 2 เซนติเมตร ที่มีการตรึง GNPs ใน inset กราฟคือการขยายให้เห็นการเปลี่ยนแปลงสัญญาณในช่วงต้นของค่าดัชนีหักเหของสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ลักษณะและสมบัติการตรวจวัดของเซนเซอร์ Ab-A/GNPs/FOB

4.4.1 การทดสอบการดูดกลืนแสง (Absorbance) ของสารละลายตัวอย่างหมู่เลือด ABO

จากรูปที่ 4.8 และตารางที่ 4.5 แสดงถึงการดูดกลืนแสงของหมู่เลือดต่างๆ ที่มีค่าความยาวคลื่นที่ดูดกลืนสูงสุดใกล้เคียงกันสองบริเวณ คือ 541.27 และ 574.74 ± 0.91 นาโนเมตร แสดงให้เห็นว่า ถึงแม้แอนติเจนบนผิวของเม็ดเลือดแดงทั้งสามชนิดนั้นจะแตกต่างกันออกไป แต่ความแตกต่างนี้ไม่ได้ส่งผลถึงสมบัติทางแสงของหมู่เลือด และยังสามรถระบุได้ว่าการดูดกลืนแสงที่เกิดขึ้นนั้น จะขึ้นกับเม็ดเลือดแดงและในความยาวคลื่นทั้งสองตำแหน่งนี้จะใช้ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางแสงของ Ab-A/GNPs/FOB เนื่องจากจะมีผลของการดูดกลืนแสงสูงสุดที่กระทำต่อสมบัติของ Ab-A/GNPs/FOB



รูปที่ 4.8 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของหมู่เลือด (สีฟ้า) A (สีส้ม) B (สีเทา) O

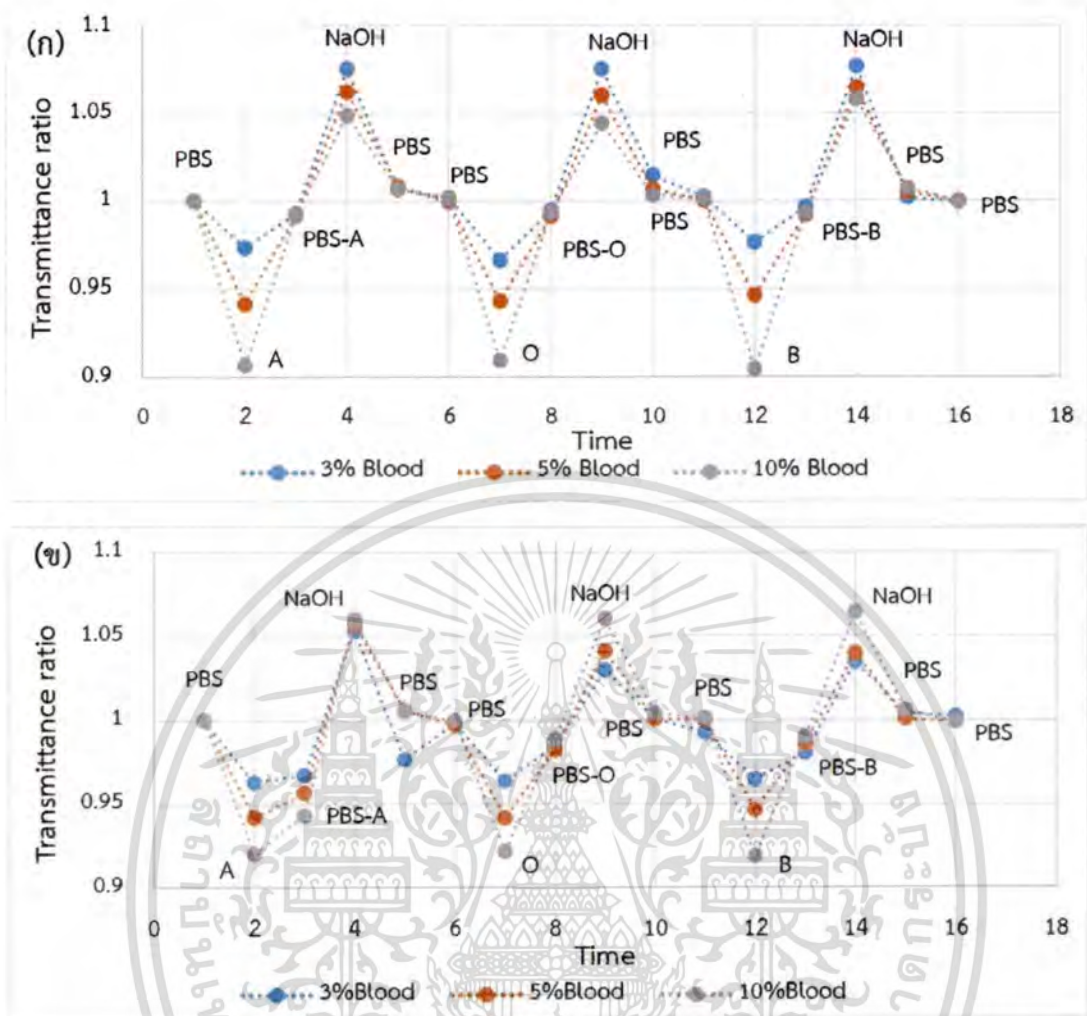
ตารางที่ 4.5 ความยาวคลื่นแสงที่ถูกดูดกลืน เมื่อวัดในสารละลายเลือดตัวอย่าง

ความยาวคลื่นแสงที่ถูกดูดกลืน	หมู่เลือด			ค่าเฉลี่ย (nm)
	หมู่เลือดA	หมู่เลือดB	หมู่เลือดO	
สูงที่สุดตำแหน่งที่1	541.266	541.266	541.266	541.27
สูงที่สุดตำแหน่งที่2	574.21	575.794	574.21	574.74±0.91
น้อยที่สุด	559.057	559.859	559.859	559.59±0.46

4.4.2 การทดสอบ Ab-A/GNPs/FOB เมื่อทดสอบกับตัวอย่างเลือดหมู่ ABO

การทดสอบ Ab-A/GNPs/FOB โดยใช้หมู่เลือด A B และ O เพื่อหาความจำเพาะของเซนเซอร์ รวมถึงความสามารถในการวัดทางชีววิทยา จากที่ได้กล่าวข้างต้น การศึกษาตอนนี้จะสังเกตที่สองความยาวคลื่นที่ถูกเลือดทั้งสามหมู่ดูดกลืนสูงที่สุด โดยการวัดจะเรียงลำดับ โดยหมู่เลือด A B และ O และทำการล้างพื้นผิวเพื่อเอาเม็ดเลือดแดงออกด้วย 5mM NaOH จากนั้นตามด้วยสารละลาย PBS เพื่อใช้อ่านค่าสัญญาณเทียบกับตอนเริ่มต้นด้วย NaOH 5 มิลลิโมลาร์ และ สารละลาย PBS 2 ครั้ง ก่อนเปลี่ยนชนิดเลือด โดยจะทำการวัดผลทางแสงทุกๆ ขั้นตอนในการเปลี่ยนสาร ดังรูปที่ 4.9 โดยมีเงื่อนไขควบคุม (control) เป็น GNPs/FOB ที่ไม่มี Ab-A อยู่ในบนพื้นผิวเซนเซอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.9 ค่าสัดส่วน Transmittance เทียบกับ PBS เป็นตัวอ้างอิงในขั้นตอนการวัด Ag ของหมู่เลือด A O และ B ตามลำดับ (ก) GNP/FOB (control) (ข) Ab-A/GNP/FOB

จากผลการทดลองพบว่า เมื่อตรวจวัดในสารละลายเลือดทั้งสามชนิด ค่า Transmittance ratio ที่เกิดขึ้นจะมีค่าใกล้เคียงกันในทุกๆ หมู่เลือด และเป็นเช่นนี้ทั้งสองเงื่อนไข เนื่องจากขณะที่ไฟเบอร์จุ่มในสารละลายเลือด จะมีความเข้มข้นมาก ทาให้สัญญาณที่เกิดขึ้นไม่ต่างกัน แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อมีการวัดสัญญาณหลังจากที่มีการล้างพื้นผิวด้วยสารละลาย PBS หลังจากวัดในสารละลายเลือดหมู่เอ (PBS-A) เพื่อชะล้างโมเลกุลเลือดที่ไม่เกาะกับ Ab-A บนพื้นผิวออก สัญญาณที่เกิดขึ้นตรงนี้จะเป็นสัญญาณของการที่มีเซลล์เม็ดเลือดแดงมาติดบนพื้นผิวไฟเบอร์ ดังนั้นในการตรวจวัดสัญญาณจะทำการเปรียบเทียบสัญญาณของสารละลาย PBS ก่อนและหลังจากการจุ่มในสารละลายที่ตรวจวัด จากผลการทดลองพบว่าในเงื่อนไข control จะมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

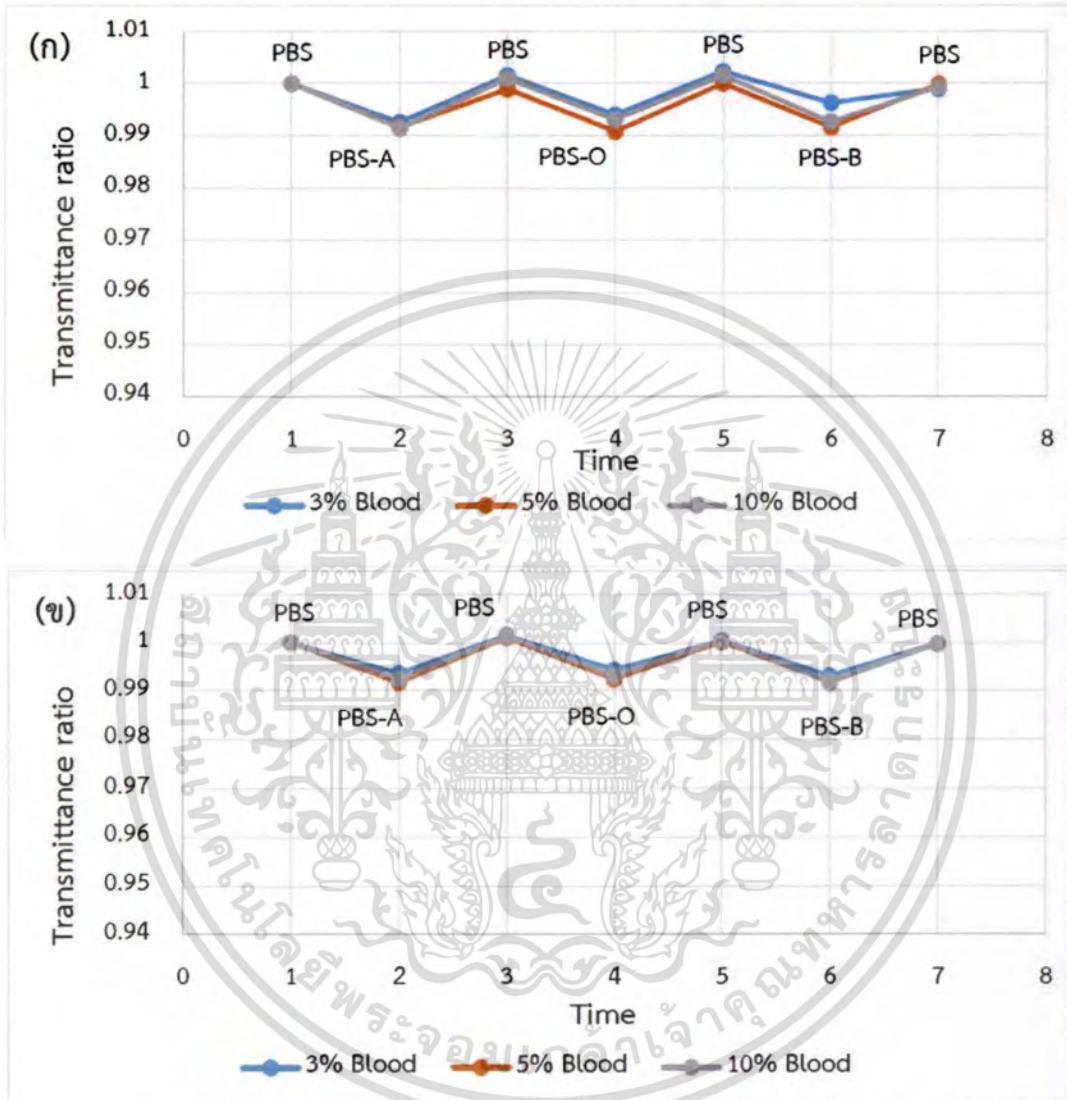
สัญญาณของ PBS ก่อน (PBS) และ PBS หลัง (PBS-A) จากการจุ่มสารละลายเลือดเอ มีค่าเท่าๆ กัน เมื่อมีการวัดในสารละลาย PBS หลังจากหมู่เลือด A (PBS-A) เพื่อขจัด Ag ที่ไม่เกิดปฏิกิริยากับ Ab-A บนพื้นผิว (Unbounded molecules) จะสังเกตว่า การเปลี่ยนแปลงของค่า Transmittance จะเกิดได้อย่างชัดเจนในเงื่อนไข control เกิดการเพิ่มขึ้นของสัญญาณมาก จนใกล้เคียงกับสัญญาณเริ่มต้น (PBS) ซึ่งเกิดขึ้นเช่นเดียวกันในการทดสอบกับหมู่เลือด O และ B ในขณะที่ Ab-A/GNPs/FOB แสดงความแตกต่างในสัญญาณที่เพิ่มขึ้นเล็กน้อย ในการทดสอบกับ หมู่เลือด A ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ในเซนเซอร์ Ab-A/GNPs/FOB เกิดปฏิกิริยาของ Ab-A กับ Ag-A ยึดติดกันขึ้น ในทางกลับกันในการทดสอบกับหมู่เลือด O และ B จะแสดงผลที่คล้ายคลึงกับ control ที่เกิดการเปลี่ยนแปลงสัญญาณหลังล้างด้วย PBS ในแต่ละครั้ง (PBS-O, PBS-B) กลับมาอยู่ในระดับที่ใกล้เคียงกับ PBS ก่อนหน้า ซึ่งแสดงถึงการไม่เกิดปฏิกิริยาของเม็ดเลือด B และ O ในขณะเดียวกันในการเปลี่ยนแปลงของเงื่อนไข control ในการตรวจวัดหมู่เลือด B และ O ให้ผลเช่นเดียวกับ Ab-A/GNPs/FOB และไปในทางเดียวกันในการตรวจวัดเลือดหมู่ A ซึ่งเป็นการยืนยันได้ว่า ผลการทดลองที่เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนขึ้นอยู่กับกรณี Ab ที่สอดคล้องกับชนิด Ag

โดยสัดส่วนการเปลี่ยนแปลงค่า %Transmittance มีความเกี่ยวเนื่องกับค่าความเข้มข้นของเลือดที่ตรวจวัด ดังในรูปที่ 4.10 สามารถสังเกตความแตกต่างอันเนื่องมาจากความเข้มข้นได้ เพื่อการวิเคราะห์ที่ชัดเจน และสังเกตการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจนยิ่งขึ้น ในการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่า สัดส่วนการ Transmittance (Transmittance ratio) ระหว่าง การวัดในสารละลาย PBS เริ่มต้น เทียบกับ สารละลาย PBS ในการล้าง Unbounded molecules (PBS-A PBS-O และ PBS-B) ดังรูปที่ 6 ที่พบว่า ในเงื่อนไข (ก) control ที่ความยาวคลื่น 541.27 นาโนเมตรและ (ข) control ที่ความยาวคลื่น 574.74 ± 0.91 นาโนเมตร ที่ทั้งสองความยาวคลื่นมีการเปลี่ยนแปลงของสัดส่วนเปลี่ยนแปลงน้อยกว่าร้อยละ 1 ในทุกๆ ความเข้มข้นและชนิดของตัวอย่างเลือด และไม่บ่งบอกถึงความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของเลือดที่ใช้

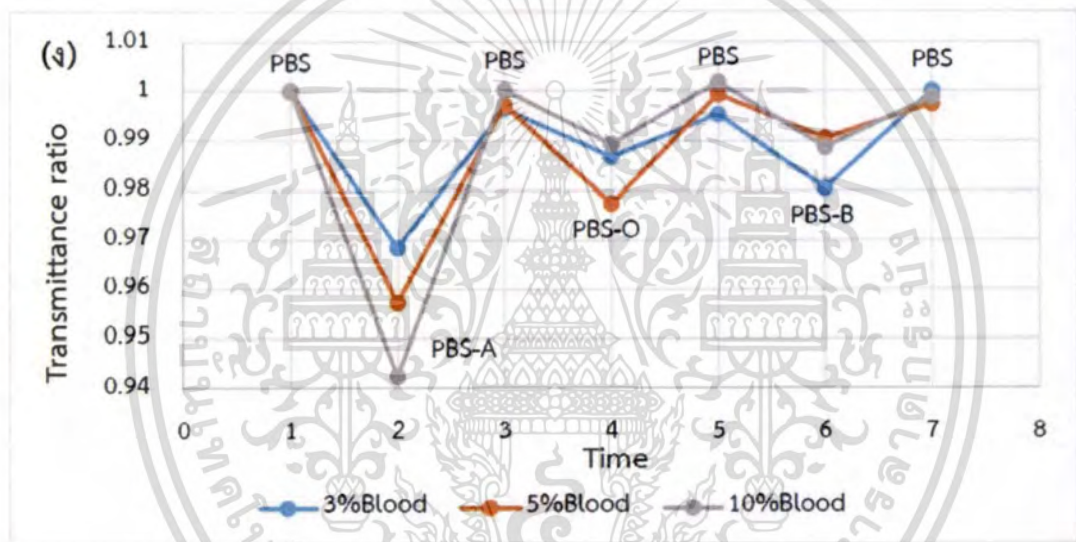
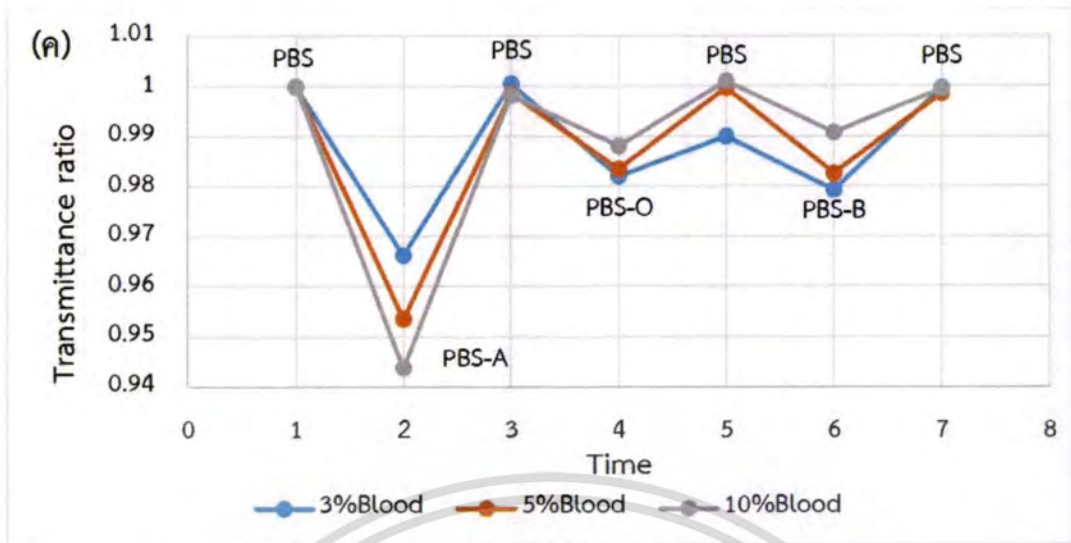
ซึ่งในขณะที่ในเงื่อนไข (ค) Ab-A/GNPs/FOB ที่ความยาวคลื่น 541.27 นาโนเมตร และ (ง) Ab-A/GNPs/FOB ที่ความยาวคลื่น 574.74 ± 0.91 นาโนเมตร เมื่อเทียบกับสัญญาณที่ PBS เริ่มต้น (Transmittance ratio=1) สามารถแสดงออกถึงประสิทธิภาพของเซนเซอร์ จากสัดส่วนการเปลี่ยนแปลงมากกว่าร้อยละ 3 ร้อยละ 4.5 และร้อยละ 5.5 เมื่อตรวจวัดตัวอย่างเลือดหมู่ A ที่ความเข้มข้น 3% 5% และ 10% ในสารละลายบัฟเฟอร์ PBS ตามลำดับ ในขณะที่ในหมู่เลือดอื่นๆ สัดส่วนในการเปลี่ยนแปลงมีค่าน้อยกว่าร้อยละ 2 ในทุกๆ ความเข้มข้น และแสดงถึงการเพิ่มหรือลดความเข้มข้นของตัวอย่างนั้น ไม่มีนัยสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณ ซึ่งผลการทดลองนี้สามารถยืนยันผลการทดลองที่อภิปรายก่อนหน้าได้ชัดเจนมากยิ่งขึ้น ซึ่งการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของค่า Transmittance ที่เกิดขึ้น ในการวัดหมู่เลือด A เรียกว่า Specific binding signal ในทางกลับกันการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณในหมู่เลือดอื่นๆ เรียกว่า Unspecific binding

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

signal และสามารถระบุได้ว่าการเปลี่ยนแปลงของ สัดส่วนการ Transmittance ที่เกิดขึ้นที่ทั้งสองความยาวคลื่นไม่เกิดความแตกต่างที่มีนัยสำคัญ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



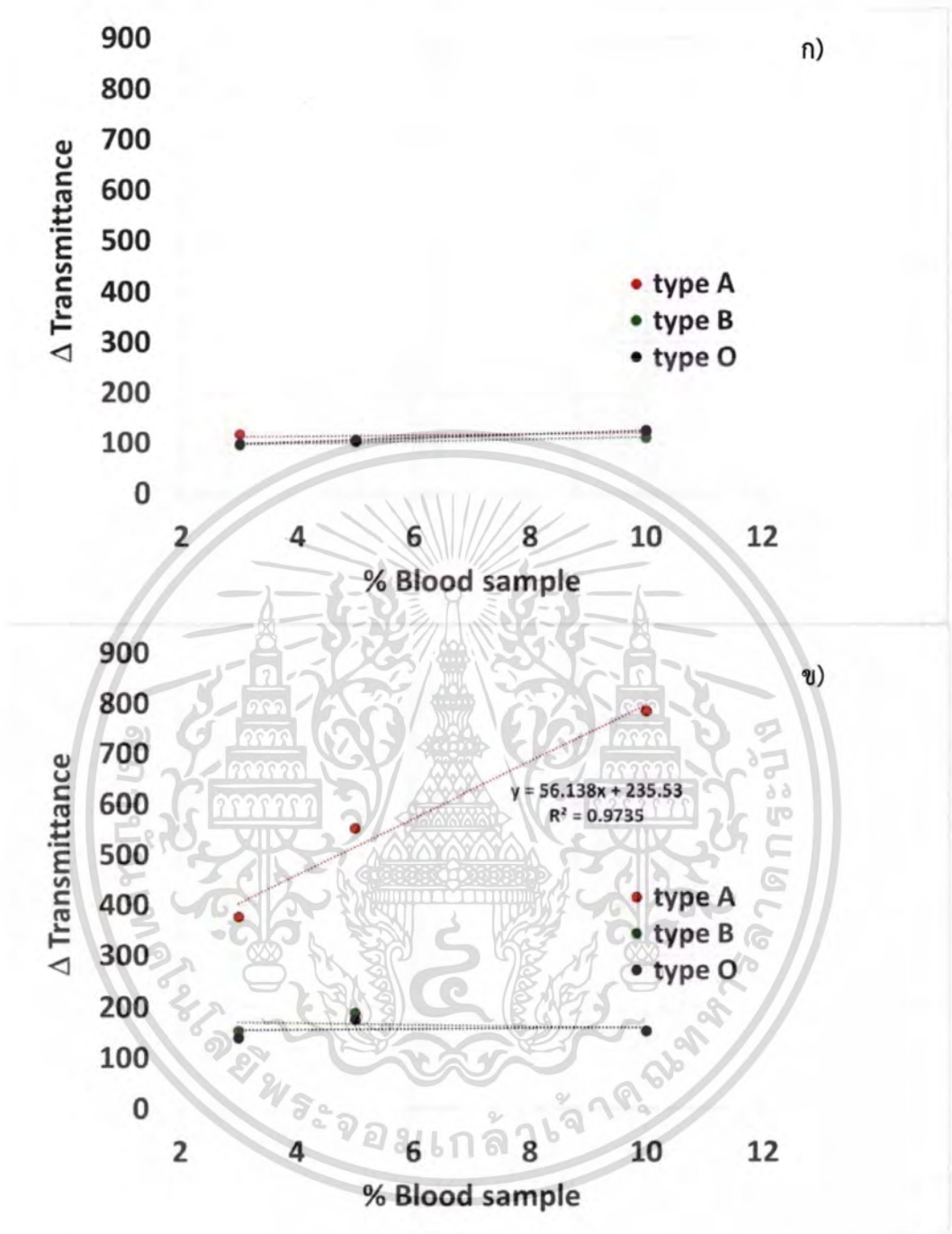
รูปที่ 4.10 การเปลี่ยนแปลงค่า %Transmittance เปรียบเทียบ PBS ก่อนและหลังตรวจวัดในแต่ละหมู่เลือด (ก) GNPs/FOB ที่ความยาวคลื่น 541.27 นาโนเมตร (ข) GNPs/FOB ที่ความยาวคลื่น 574.74 ± 0.91 นาโนเมตร (ค) Ab-A/GNPs/FOB ที่ความยาวคลื่น 541.27 นาโนเมตร และ (ง) Ab-A/ GNPs/FOB ที่ความยาวคลื่น 574.74 ± 0.91 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.3 การทดสอบหา calibration curve ของสารตัวอย่างเม็ดเลือดแดง

การทดสอบเพื่อสร้างกราฟมาตรฐานสำหรับสารตัวอย่างเซลล์เม็ดเลือดแดงหมู่เอ เนื่องจากต้องการทราบว่าเซนเซอร์ที่เตรียมขึ้นสามารถใช้งานตรวจวัดสารตัวอย่างเลือดในช่วงความเข้มข้นใด จึงทำการทดลองโดยการเตรียมเซลล์เม็ดเลือดแดงหมู่เอ บี และ โอ ที่ความเข้มข้น 3 ความเข้มข้น คือ 3, 5 และ 10 %v/v แล้วนำไปตรวจวัดโดยใช้ไฟเบอร์ออปติกเซนเซอร์ที่เตรียมขึ้น ซึ่งพบว่าเซนเซอร์สามารถตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงทางแสงเมื่อจุ่มในสารละลายเม็ดเลือดแดงหมู่เอ แต่จะไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงหรือเกิดการเปลี่ยนแปลงน้อยเมื่อจุ่มในสารละลายเม็ดเลือดแดงหมู่บี และ โอ ซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากการเกิดปฏิกิริยาจับแบบจำเพาะเจาะจงระหว่างแอนติบอดีชนิดเอ และ แอนติเจนเอที่อยู่บนผิวเม็ดเลือดแดงหมู่เอเท่านั้น แต่เซลล์เม็ดเลือดแดงหมู่บี และ โอ ไม่มีแอนติเจนที่จำเพาะกับแอนติบอดีเอ จึงไม่เกิดการเกาะติดของเซลล์เม็ดเลือดแดงบนพื้นผิว โดยการที่มีเซลล์เม็ดเลือดแดงหมู่เอมาเกาะติดที่พื้นผิวเซนเซอร์ ซึ่งเปรียบเสมือนค่าดัชนีหักเหของสารบนพื้นผิวเซนเซอร์เปลี่ยนแปลงไป ส่งผลให้เกิดการดูดกลืนแสงขึ้นไปที่ผิวเซนเซอร์ ทำให้ค่าแสงส่องผ่าน (%Transmittance) ลดลง เมื่อเทียบกับพื้นผิวเซนเซอร์ตอนที่ยังไม่มีเซลล์เม็ดเลือดมาเกาะติด โดยในการรายงานค่าสัญญาณจะคิดเทียบเป็นค่าความแตกต่างของแสงส่องผ่านก่อนและหลังจากการจุ่มในสารละลายเลือดตัวอย่าง (Δ change) ดังแสดงในรูปที่ 4.11

เมื่อความเข้มข้นของสารละลายเลือดหมู่เอมีค่าเพิ่มขึ้น (3% 5% และ 10%) ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่าแสงส่องผ่าน (Δ Intensity) มากขึ้น แต่สำหรับสารละลายเลือดหมู่บี และ โอ พบว่ามีค่าการเปลี่ยนแปลงของแสงส่องผ่านน้อยมาก และไม่มีความต่างกันเมื่อความเข้มข้นของสารเพิ่มมากขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 4.11 (ข)



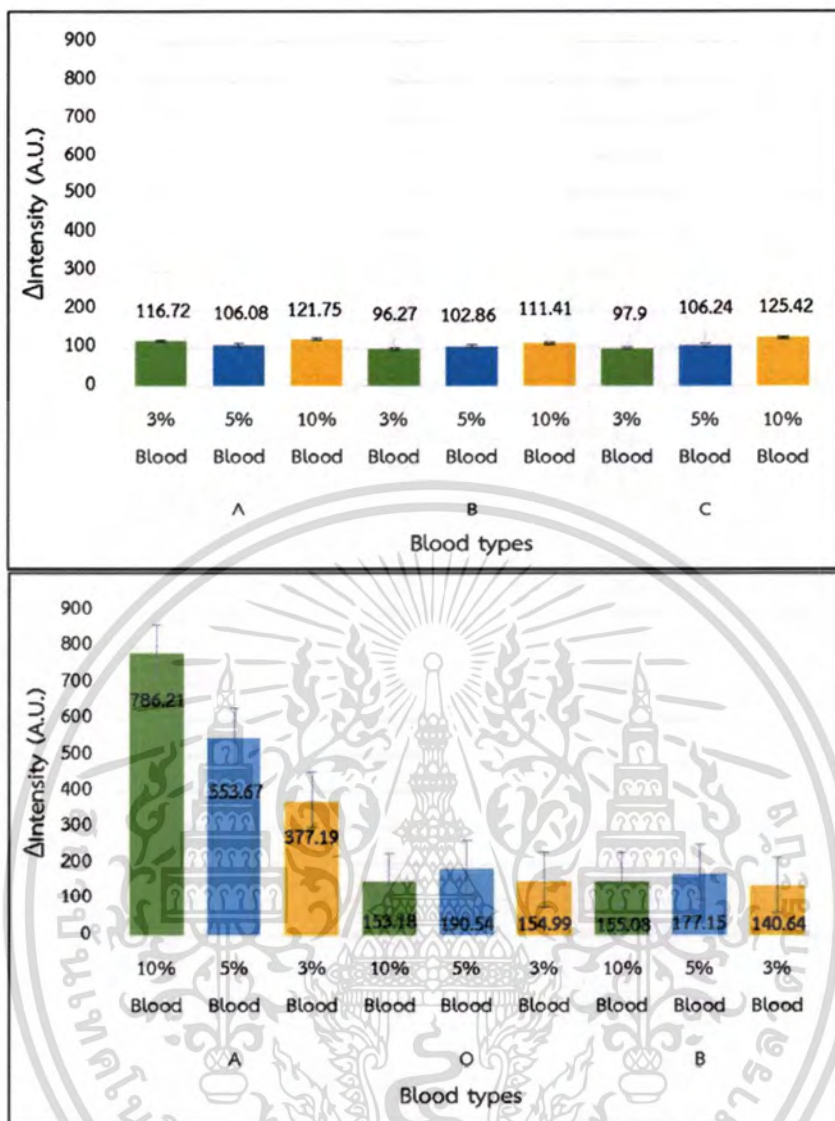
รูปที่ 4.11 กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณค่าแสงส่องผ่านของสารตัวอย่างเลือดหมู่เอ บี และ โอ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ก) ไฟเบอร์ที่ไม่ได้ตรึงพื้นผิวด้วยแอนติบอดี (GNPs/FOB) และ ข) ไฟเบอร์ที่ตรึงด้วยแอนติบอดีเอ (AbA/GNPs/FOB)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.11 (ก) พบว่า ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณที่ได้จากเซนเซอร์ GNP/FOB ไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างเซลล์เม็ดเลือดทั้งสามชนิด ในขณะที่ Ab/GNPs/FOB แสดงการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนเมื่อเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายเลือด หมู่ A เท่านั้น แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงเมื่อทดสอบกับสารละลายเลือดอีกสองชนิด ทั้งนี้สามารถระบุได้ว่า การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นมีความจำเพาะเจาะจงของเซนเซอร์ที่ดี และผลการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นเป็นผลจากการมี Antibody-A ในระบบ นั่นคือ จะเกิดการเปลี่ยนแปลงก็ต่อเมื่อเกิดปฏิกิริยาระหว่างคู่ Antigen-A และ Antibody-A เท่านั้น และการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวยังสัมพันธ์ต่อการ เปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลาย อย่างเป็นเส้นตรงอีก ซึ่งมีความสัมพันธ์ตามสมการที่ 1

$$Y = 56.138x + 235.53 \quad \text{[สมการที่ 4.1]}$$

ในการศึกษาสัญญาณที่เกิดขึ้นทั้ง specific binding signal และ unspecific binding signal ที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาของคู่ Ag-Ab ที่เข้าคู่กัน และไม่เข้าคู่กัน ตามลำดับ แสดงการตอบสนองการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณความเข้มแสงส่องผ่าน (Transmittance) ที่แตกต่างกันของทั้งสองสัญญาณ เมื่อเปรียบเทียบค่า Transmittance ในสารละลาย PBS ก่อนตรวจวัด และ PBS หลังจากการล้าง unbounded molecules โดยมีเงื่อนไขควบคุมเป็น ก) GNP/FOB เช่นเดิม และ ข) Ab-A/GNP/FOB พบว่า ในเงื่อนไขควบคุม การเปลี่ยนแปลงของสัญญาณในการวัดเลือดทั้งสามหมู่แสดงออกอยู่ในช่วงที่น้อยกว่าสัญญาณสามเท่าของสัญญาณรบกวน (Noise signal; 150 A.U.) ทำให้พิจารณาการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนั้นเป็นสัญญาณรบกวนได้ ในขณะที่ ข) Ab-A/GNP/FOB สามารถแสดงสมบัติการแยกสัญญาณ specific binding signal และ unspecific binding signal จากรูปจะพบว่า เมื่อตรวจวัดหมู่เลือดเอนั้น ค่าสัญญาณการเปลี่ยนแปลงความเข้มของแสงส่องผ่านนั้นจะมากกว่า 3SD noise ประมาณ 2 เท่า และนอกจากนี้ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของตัวอย่างเลือดในระบบการวัดเป็น 3% 5% และ 10% พบว่า การเปลี่ยนแปลงมีค่าสูงขึ้น เนื่องจากมีปฏิกิริยาของ Ab-A และ Ag-A เพิ่มสูงขึ้น เป็น 377.19 A.U. 553.67 A.U. และ 786.21 A.U. ตามลำดับ ซึ่งก็คือ specific binding signal ในขณะที่ในการวัดหมู่ เลือด B และ O ซึ่งเป็น unspecific binding signal มีเปลี่ยนแปลงของความเข้มแสงส่องผ่านน้อยกว่าสามเท่าของสัญญาณรบกวน ดังแสดงในรูปที่ 4.12 ซึ่งจากการทดลองในส่วนนี้สามารถระบุได้ว่า Ab-A/GNP/FOB มีความจำเพาะเจาะจงอย่างมากในการตรวจวัดหมู่เลือดหมู่เอ และไม่มีการรบกวน ของสัญญาณ unspecific binding อย่างไรก็ตามการเพิ่มขึ้นของการเปลี่ยนแปลงสัญญาณแสงตามความเข้มข้นที่มากขึ้นนี้ จะเกิดการคงที่ได้เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเลือดสูงขึ้นมากกว่า 10% เนื่องจาก ขอบเขตจำกัดจากปริมาณการเข้าคู่กันของคู่แอนติเจนและแอนติบอดี (Ag-A/Ab-A) ขึ้นอยู่กับปริมาณของแอนติบอดีบนพื้นผิว Ab-A/GNP/FOB



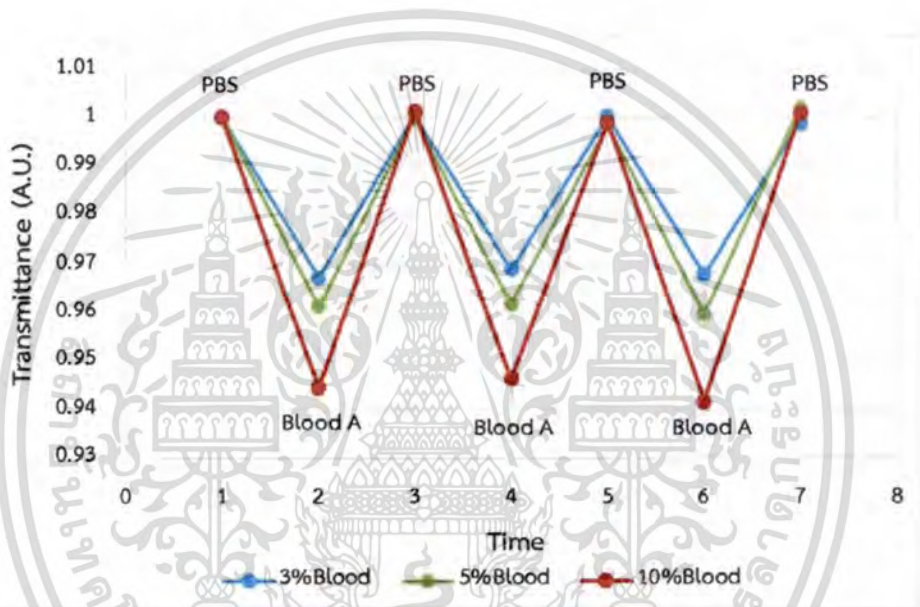
รูปที่ 4.12 การเปลี่ยนแปลงค่าความเข้มของแสงส่องผ่านเมื่อตรวจวัดในหมู่เลือด ABO (n) Ab-A/GNPs/FOB (ข) GNP/FOB

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.4 การทดสอบความสามารถในการวัดซ้ำและความเสถียรของ Ab-A/GNPs/FOB

(Repeatability and Stability)

การทดสอบการตรวจวัดซ้ำของเซนเซอร์โดยการวัดค่าแสงส่องผ่านเปรียบเทียบสัญญาณของ PBS ก่อนและหลังการจุ่มในเลือดตัวอย่างหมู่เอ พบว่า Ab-A/GNPs/FOB มีสมบัติการวัดซ้ำที่ดีและสามารถวัดต่อเนื่องได้หลายรอบโดยสัญญาณไม่ลดลง โดยในรูปที่ 4 แสดงการวัดเลือดเอซ้ำ 3 รอบ ซึ่งเมื่อสังเกตค่าการทะลุผ่านของแสงที่ออกมาของ PBS หลังตรวจวัดสารละลายเลือดแล้ว จะกลับมาอยู่ที่ระดับที่ใกล้เคียงกับค่า Transmittance ของ PBS ก่อนหน้า นอกจากนี้เซนเซอร์ยังแสดงถึงความเสถียรของสัญญาณที่ได้ออกมาจากการวัดสารตัวอย่างหลายครั้ง แสดงดังรูปที่ 4.13



รูปที่ 4.13 Repeatability และ Stability ของ Ab-A/GNPs/FOB ที่ความเข้มข้นสารตัวอย่างเลือดหมู่เอ ที่ความเข้มข้นต่างๆ (สีฟ้า) 3% (สีเขียว) 5% และ (สีแดง) 10% v/v

ข้อมูลในตารางที่ 4.6 แสดงถึงความเสถียรของเซนเซอร์ที่สามารถแสดงออกมาได้อย่างดีมาก วิเคราะห์ได้จากค่าความคลาดเคลื่อน (S.D.) ของสัญญาณในแต่ละรอบการวัดที่มีค่าการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณ (Δ Transmittance) ที่อยู่ในระดับใกล้เคียงกัน มีค่าสูงสุดเพียงแค่ 16.39 A.U. ซึ่งเป็นค่าเบี่ยงเบนของสัญญาณที่ต่ำ และไม่มีความสำคัญใดๆ ต่อการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณ เนื่องจากอยู่ในช่วงสัญญาณของสัญญาณรบกวน (Noise) ที่ 50 A.U. และสัญญาณที่ได้ยังแสดงความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นอย่างมีความสำคัญทั้งสามครั้งการวัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 แสดงค่าสัญญาณการเปลี่ยนแปลงแสงส่องผ่านที่วัดได้จากการวัดสารตัวอย่างเลือดหมูเอ บี และ โอ ซ้ำ 3 ครั้ง

รอบที่	Δ Transmittance		
	3% blood A	5% blood A	10% blood A
cycle 1	377.19	541.12	766.21
cycle 2	362.96	534.74	762.43
cycle 3	371.39	542.00	792.52
Ave	370.51	539.29	773.72
S.D.	7.16	3.96	16.39

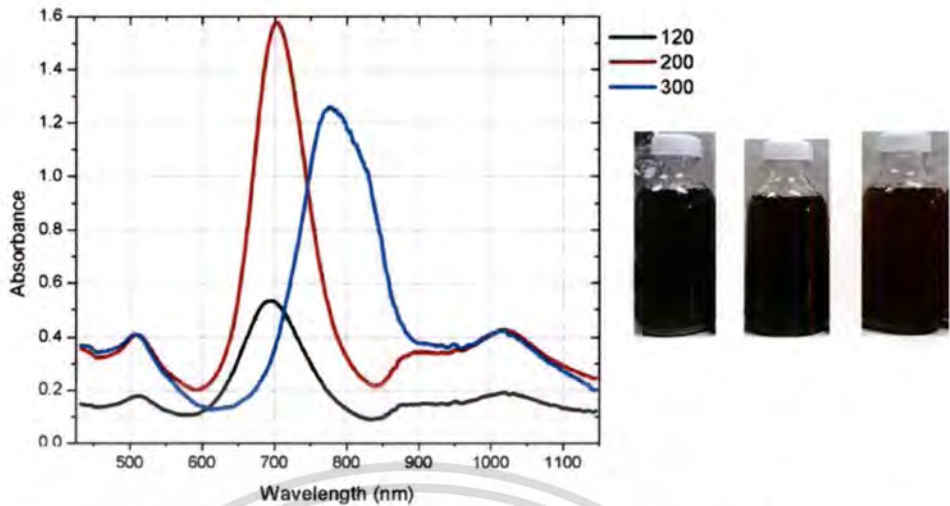
4.5 การสังเคราะห์อนุภาคทองคำนาโนแบบแท่ง (Gold Nanorods; GNRs)

ในส่วนนี้ทางผู้วิจัยได้ทำการปรับเปลี่ยนขนาดของอนุภาคนาโนที่ใช้เพื่อดูลักษณะการตอบสนองต่อสัญญาณของเซนเซอร์ เนื่องจากการปรับขนาดของอนุภาคนาโนมีผลต่อสมบัติเชิงแสงของอนุภาคด้วย ขั้นตอนเริ่มจากการสังเคราะห์อนุภาคนาโนแบบแท่ง (gold nanorods; GNRs) ทดสอบสมบัติการดูดกลืนแสงของ GNRs การเคลือบ GNRs ลงบนพื้นผิวไฟเบอร์ออปติก การตรึงแอนติบอดีเอ การทดสอบกับหมู่เลือด โดยมีรายละเอียด ดังต่อไปนี้

4.5.1 ลักษณะการดูดกลืนแสงของสารละลาย GNRs

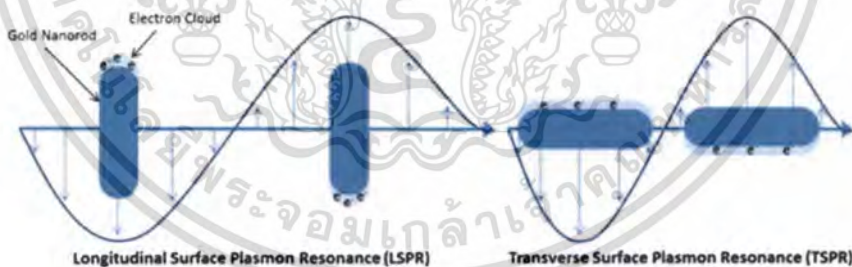
เมื่อนำสารละลาย GNRs ที่สังเคราะห์ได้ไปวัดการดูดกลืนแสง พบว่าลักษณะการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองคำนาโนแบบแท่ง (GNRs) มีการดูดกลืนแสงในสองตำแหน่งของความยาวคลื่น (λ) ซึ่งตำแหน่งของความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) อยู่ที่ประมาณ 520 นาโนเมตร และ ท่ำร้อยกว่าๆ แตกต่างกันไปตามปริมาตรของ $AgNO_3$ ที่เติมลงไป โดยพบพีคที่ตำแหน่ง 670, 700 และ 760 นาโนเมตร เมื่อเติม $AgNO_3$ ในปริมาตร 120, 200 และ 300 ไมโครลิตร ตามลำดับ ซึ่งพีคที่ตำแหน่งประมาณ 520 นาโนเมตร แสดงการดูดกลืนแบบ transverse absorption และพีคที่ประมาณท่ำร้อยกว่าๆ แสดงการดูดกลืนแบบ longitudinal absorption ดังแสดงในรูปที่ 4.14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.14 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคนาโนทองแบบแท่งที่สังเคราะห์ขึ้น โดยใช้สารละลาย 0.02 โมลาร์ AgNO_3 ปริมาตรแตกต่างกันที่ 120, 200 และ 240 ไมโครลิตร

ซึ่งตาม Gans theory ได้บอกว่าการเกิด polarization ซึ่งเกี่ยวข้องกับ surface plasmon resonance นั้นจะขึ้นกับขนาด และรูปร่าง (size and shape) ของอนุภาคนาโนเป็นอย่างมาก เมื่ออนุภาคนาโนไม่มีความสมมาตรเกิดขึ้น (ไม่ใช่ทรงกลม) จะทำให้เกิด plasmon resonance ได้มากขึ้น ดังเช่นในกรณีของ GNRs ซึ่งจะพบ SPR ที่ 2 ตำแหน่งของความยาวคลื่น (transverse และ longitudinal) ซึ่งภาพปรากฏการณ์ LSPR บน GNRs แสดงดังรูปที่ 4.15



รูปที่ 4.15 แสดงภาพการเกิดปรากฏการณ์ LSPR ในด้าน longitudinal และ transverse surface ของอนุภาคนาโนแบบแท่ง (42)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

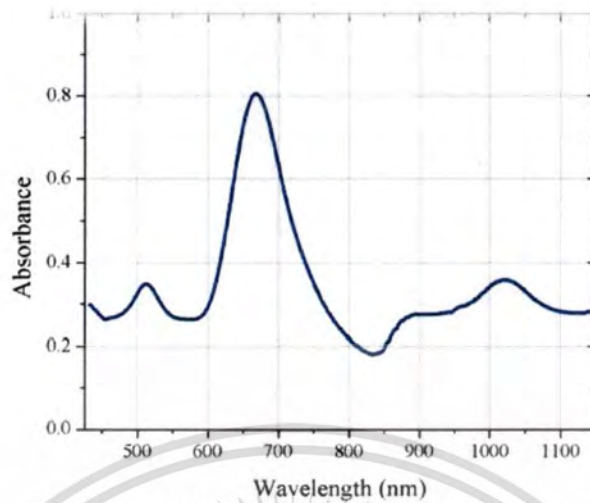
จากการศึกษาข้อมูลพบว่าการเกิด polarization ของอนุภาค GNRs จะเกิดได้ง่ายที่พลังงานต่ำหรือความยาวคลื่นสูง หากค่า aspect ratio (อัตราส่วนของ length และ width) ของ GNRs เพิ่มขึ้นเมื่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางคงที่ จะมีผลต่อค่า longitudinal และ transverse plasmon resonance แต่อย่างไรก็ตามจะส่งผลต่อด้าน longitudinal ที่จะเกิด polarization และ sensitive ต่อการเปลี่ยนแปลง aspect ratio มากกว่าด้าน transverse โดยปกติ longitudinal surface plasmon resonance จะเกิดที่ตำแหน่งความยาวคลื่นประมาณ 550 นาโนเมตรจนถึง มากกว่า 2000 นาโนเมตร เมื่อมีการปรับ aspect ratio ในขณะที่ transverse surface plasmon resonance จะเกิดที่ประมาณ 510 ถึง 520 นาโนเมตร ดังนั้นโดยส่วนใหญ่พีคของ GNRs จะถูกรายงานด้วยตำแหน่งของ longitudinal surface plasmon resonance ซึ่งมีการดูดกลืนได้ตั้งแต่ช่วงแสง visible (UV-vis) ถึง near-infrared (NIR)

ดังนั้นจากผลการสังเคราะห์ GNRs พบว่ามีลักษณะการดูดกลืนแสงที่แตกต่างไปจากอนุภาคทองคำนาโนแบบทรงกลม (gold nanoparticles; NGPs) ดังได้รายงานในรายงานฉบับก่อนหน้าแล้ว

4.5.2 การทดสอบ GNRs/FOB ในสารละลายที่มีค่าดัชนีหักเหที่แตกต่างกัน

4.5.2.1 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองคำนาโนแบบแท่ง

เมื่อทำการสังเคราะห์ GNRs เพื่อนำไปใช้ทำไฟเบอร์ออปติกเซนเซอร์เพื่อตรวจวัดคู่ปฏิกิริยาของแอนติบอดีและหมู่เลือดเอ ลักษณะของสเปกตรัมการดูดกลืนแสงแสดงในรูปที่ 4.16 ซึ่งพบการดูดกลืนแสงที่ 2 ตำแหน่งความยาวคลื่น คือ 520 และ 659 นาโนเมตร ซึ่งแสดงถึง transverse surface plasmon resonance และ longitudinal surface plasmon resonance ที่เกิดขึ้นบนอนุภาคทองคำนาโนแบบแท่ง โดยตำแหน่งการดูดกลืนแสงนั้นห่างกันอย่างชัดเจน ซึ่งบอกได้ว่าลักษณะของอนุภาคทองคำนาโนที่สังเคราะห์ขึ้นเป็นแบบแท่ง ไม่ได้เกิดลักษณะเป็นก้อนทรงกลม



รูปที่ 4.16 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองคำนาโนแบบแท่งที่สังเคราะห์ขึ้น

4.5.2.2 การทดสอบหาความไวของไฟเบอร์ออปติกที่เคลือบ GNRs

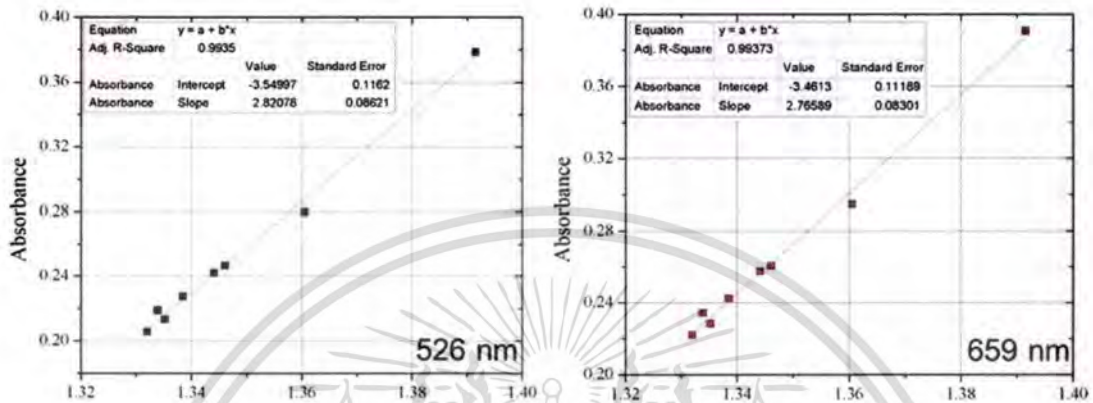
GNRs ที่สังเคราะห์ขึ้นถูกนำมาเคลือบบนพื้นผิวไฟเบอร์ตามขั้นตอนในหัวข้อที่ 3.5 (บทที่ 3) ซึ่งหลังจากเคลือบแล้ว จะเห็นความต่างบนพื้นผิวไฟเบอร์คือ พื้นผิวแก้วมีสีเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งบ่งบอกว่าการติดของ GNRs บนพื้นผิวไฟเบอร์ ดังแสดงในรูปที่ 4.17



รูปที่ 4.17 แสดงภาพไฟเบอร์ก่อน (เส้นบน) และ หลัง (เส้นล่าง) จากเคลือบด้วยอนุภาคทองคำนาโนแบบแท่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากนั้นไฟเบอร์ที่เคลือบด้วย GNRs ถูกนำไปทดสอบค่าความไวในการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีหักเหของสารที่ผิวหน้าทอง โดยนำไฟเบอร์ไปวัดสารละลายกลีเซอรอลที่มีค่าดัชนีหักเหที่แตกต่างกัน และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนไป ซึ่งผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.18



รูปที่ 4.18 กราฟสัญญาณการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงเมื่อนำไฟเบอร์ออปติกวัดในสารละลายกลีเซอรอลที่มีค่าดัชนีหักเหต่างๆ โดยด้านซ้ายคือสัญญาณการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นที่ความยาวคลื่นตำแหน่ง 526 นาโนเมตร และกราฟขวาคือสัญญาณการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นที่ความยาวคลื่นตำแหน่ง 659 นาโนเมตร

จากรูปที่ 5 แสดงผลการเปรียบเทียบค่าความไวของไฟเบอร์ออปติกเซนเซอร์ โดยค่าความไวสามารถดูได้จากค่าความชัน (slope) ที่ได้จากรูป หรือค่าความชันที่ได้จากสมการความสัมพันธ์เชิงเส้นที่ได้จากรูป โดยเปรียบเทียบ ณ ตำแหน่งความยาวคลื่นแบบ transverse (526 nm) และ longitudinal (659 nm) พบว่าให้ค่าความไวที่ 2.82 และ 2.77 a.u./RIU ตามลำดับ ซึ่งจากการพิจารณาค่าความไวของทั้ง 2 ตำแหน่ง มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างชัดเจน ในเบื้องต้นจึงบอกได้ว่าสามารถนำเซนเซอร์ไปใช้งานในการตรวจวัดต่อไปได้และสามารถใช้ค่าการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นจากทั้ง 2 ตำแหน่ง ในการอ่านค่าสัญญาณ

โดยจากผลการทดลองในงานวิจัยนี้ได้สร้างอุปกรณ์ไฟเบอร์ออปติกเซนเซอร์สำหรับตรวจวัดสารชีวโมเลกุลหรือสารเคมีได้สำเร็จ โดยไฟเบอร์ออปติกเซนเซอร์นี้อาศัยอนุภาคทองคำนาโนเป็นตัวช่วยเพิ่มสัญญาณของ evanescence field ซึ่งมีผลต่อค่าดัชนีหักเหของสารที่เปลี่ยนแปลงไปบนผิวหน้าทอง ทำให้ช่วยตรวจวัดปฏิกิริยาการจับกันของคู่โปรตีนที่จำเพาะได้ โดยเมื่อมีสารเกาะติดบนพื้นผิวเซนเซอร์จะ

ทำให้ค่าความเข้มแสงที่ได้มีค่าลดลง เนื่องจากเกิดการดูดกลืนแสงเข้าไปที่ชั้นผิวหน้าทอง นอกจากนั้น การเปลี่ยนแปลงลักษณะหรือขนาดของอนุภาคทองคำโนจากทรงกลมไปเป็นแบบแท่ง จะส่งผลต่อ ลักษณะการดูดกลืนแสงที่เกิดขึ้น โดยเซนเซอร์ที่ทำจากอนุภาคทองคำโนแบบแท่งจะแสดงพีคการดูดกลืนแสง 2 ตำแหน่ง คือ แบบ transverse surface plasmon resonance และ longitudinal surface plasmon resonance ที่ตำแหน่งความยาวคลื่น คือ 520 และ 659 นาโนเมตร ซึ่งสามารถนำไปใช้งานต่อยอดในการทำไฟเบอร์ออปติกเซนเซอร์เพื่อตรวจวัดสารชีวโมเลกุลได้ต่อไป



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

5.1 สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ทำการจัดตั้งระบบวัดเชิงแสงที่เป็นไฟเบอร์ออปติก ซึ่งมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับเครื่องมือมาตรฐาน UV-Visible spectrometer และสามารถนำมาใช้ในการตรวจวัดทางไบโอเซนเซอร์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งเซนเซอร์ที่จัดทำขึ้นนั้นมีการเพิ่มประสิทธิภาพในด้านความไว (sensitivity) ด้วยการใช้อนุภาคทองคำนาโน (GNPs) ซึ่งสังเคราะห์ขึ้นด้วยกระบวนการ reduction method โดยการใส่สารละลาย 0.01% HAuCl_4 เป็นสารตั้งต้น และสาร 1% TSC เป็น reducing agent ในการควบคุมขนาดของ GNPs กล่าวคือ ปริมาณ 1% TSC ที่เพิ่มสูงขึ้นขนาดของ GNPs จะลดลง โดยในงานวิจัยนี้ใช้ปริมาณของ 1% TSC เป็น 1 1.8 และ 3 มิลลิลิตร โดยสามารถแสดงผลขนาดของอนุภาคทองคำนาโนออกมาเป็นขนาด 28 ± 2.47 นาโนเมตร 20 ± 3.50 นาโนเมตร และ 10 ± 2.11 นาโนเมตร สอดคล้องกับงานวิจัยที่อ้างอิง และหลังจากนั้นนำ GNPs ที่ได้เคลือบบนผิวแกนกลางของไฟเบอร์ออปติก โดยใช้สาร APTES ช่วยในการยึดติด GNPs กับพื้นผิวไฟเบอร์ ทำให้ได้เป็นไฟเบอร์ออปติกที่เคลือบด้วยอนุภาคทองคำนาโน (GNPs/FOB) และนำมาทดสอบการเปลี่ยนแปลงสมบัติเชิงแสงเมื่อค่าดัชนีหักเหของชั้นไดอิเล็กทริกเปลี่ยนแปลง การทดสอบระยะของการปลอกไฟเบอร์ออปติกที่มีความยาว 2 เซนติเมตร ให้ค่า sensitivity มากกว่า ที่ความยาว 1 เซนติเมตร หนึ่งอันดับและจากการทดสอบ sensitivity เพิ่มเติม พบว่า GNPs/FOB เมื่อใช้ความยาวการปลอกชั้น jacket และ cladding ที่ 2 เซนติเมตร สามารถ ตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นได้ดีในช่วง 0.5%-2% กลีเซอรอลใน PBS นั้นหมายถึงการ เปลี่ยนแปลงค่าดัชนีหักเหช่วง 3.7×10^{-4} ถึง 2.9×10^{-3} เมื่อใช้ GNPs ขนาด 10 นาโนเมตร (3 มิลลิลิตร TSC) สามารถแสดงค่า sensitivity สูงที่สุด 4×10^6 A.U./RIU สูงกว่าการใช้ GNPs ขนาด 20 ± 3.50 นาโนเมตร และ 35 ± 4.3 นาโนเมตร ประมาณ 4 และ 10 เท่า ตามลำดับ พร้อมความสามารถในการวัด ซ้ำได้ดี

เซนเซอร์ถูกนำไปตรึงด้วยแอนติบอดีเอ (Ab-A/GNPs/FOB) ซึ่งมีความสามารถในการตรวจวัด แอนติเจนเอ (Ag-A) จากหมู่เลือด A ให้ค่าความต่างของสัญญาณการทะลุผ่าน อยู่ที่ 377.19 A.U. 553.67 A.U. และ 786.21 A.U. เมื่อความเข้มข้นของตัวอย่างเลือด A เพิ่มขึ้น เป็น 3% 5% และ 10% v/v และนอกจากนั้นเซนเซอร์นี้มีความจำเพาะเจาะจงในการตรวจวัดมาก เนื่องจากเกิดการเปลี่ยนแปลงสัญญาณเมื่อตรวจวัดกับหมู่เลือด A เท่านั้น ซึ่งมีค่าสัญญาณเกิน 3 เท่าของ SD noise (150 A.U.) และสามารถวัดซ้ำได้ดีในทุกความเข้มข้นของสารตัวอย่างเลือด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

ในการศึกษาเพิ่มเติมการเปลี่ยนแปลงระบบการตรวจวัดแสง อาจเปลี่ยนตัวแปรที่ตรวจวัด จากค่าการลดลงของความเข้มแสง เป็นการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงเฟสของคลื่น หรือการเปลี่ยน รัศนาบโพลาไรซ์ ในการพัฒนาและตรวจวัดสารชีวโมเลกุลชนิดอื่นที่ต้องการความแม่นยำมากขึ้นและ มีประสิทธิภาพในการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงสัญญาณทางชีววิทยาที่ค่อนข้างต่ำ เช่น การตรวจวัด ในระดับดีเอ็นเอ หรือ ยีน

สำหรับการศึกษาเพิ่มเติมในแง่ของกลไกของปรากฏการณ์ LSPR นั้น การศึกษาผ่านด้วย ระเบียบวิธีการจำลองเชิงคอมพิวเตอร์ เป็นเครื่องมือที่เหมาะสมในการทำให้เกิดความเข้าใจกลไกและ การเปลี่ยนแปลงบนพื้นผิวของบริเวณที่ตรวจวัดเพิ่มมากยิ่งขึ้น

ในการพัฒนา GNPs/FOB ในอนาคต การออกแบบโครงสร้างของระบบบริเวณตัวเซนเซอร์ในรูปแบบที่เป็นชิพขนาดเล็กมีความสามารถในการสะท้อนกลับหมดของแสง และเคลือบด้วยตัวรับ สัญญาณทางชีวภาพ และลดขนาดระบบการตรวจวัดทางแสง เพื่อทำเป็นเครื่องมือในการตรวจวัดทาง ชีววิทยาและการแพทย์แบบพกพาในอนาคต



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 6

สรุปผลผลิตงานวิจัย

6.1 ผลงานตีพิมพ์ 1 ฉบับ

วารสาร *Chaing Mai Journal of Science* Q3 Impact factor 0.409

Nongluck Hougkamhang*, Sittan Charoensuwan, Onanong Sonthipakdee, Kawin Nawattanapaiboon, Armote Somboonkaew and Ratthasart Amarit, Gold-nanoparticle-based Fiber Optic Sensor for Sensing the Refractive Index of Environmental Solutions *Chiang Mai J. Sci.* 2018; 45(5) : 2168-2177

6.2 การนำเสนอผลงานแบบโปสเตอร์

- งาน The First Materials Research Society of Thailand International Conference (1st MRS Thailand International Conference)

Nongluck Hougkamhang*, Sittan Charoensuwan, Kawin Nawattanapaiboon, Armote Somboonkaew, and Ratthasart Amarit, "Gold Nanoparticle-Based Fiber Optic Sensor for Sensing Refractive Index of Environmental Solution" Convention Center, The Empress Hotel, Chiang Mai, Thailand, October 31st - November 3rd, 2017

- งาน International Conference on Environmental Management, Engineering Technology, Multimedia & Image Processing (EEMI-2018)

Sittan Charoensuwan, Channarong Chueaiarrom, Armote Somboonkaew, Ratthasart Amarit, Nongluck Hougkamhang*, "The Study and Development of Fiber-Optic Biosensors by Using Gold Nanoparticles and Performance on Detection of Antigen-Antibody Binding", International Conference on Environmental Management, Engineering Technology, Multimedia & Image Processing (EEMI-2018), Osaka International Convention Center, Japan, 27-28 December 2018

6.3 อุปกรณ์ไฟเบอร์ออปติกเซนเซอร์สำหรับตรวจวัดสารชีวโมเลกุลหรือสารเคมี ที่มีความไวและสามารถสร้างได้ง่ายเพื่อใช้ในห้องปฏิบัติการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

1. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*. 1976;72(1):248-54.
2. Sapan CV, Lundblad RL, Price NC. Colorimetric protein assay techniques. *Biotechnology and applied Biochemistry*. 1999;29(2):99-108.
3. Wolfbeis OS. Fiber-optic chemical sensors and biosensors. *Analytical chemistry*. 2008;80(12):4269-83.
4. Lin H-Y, Huang C-H, Lu S-H, Kuo I-T, Chau L-K. Direct detection of orchid viruses using nanorod-based fiber optic particle plasmon resonance immunosensor. *Biosensors and Bioelectronics*. 2014;51:371-8.
5. Nikoobakht B, El-Sayed MA. Preparation and growth mechanism of gold nanorods (NRs) using seed-mediated growth method. *Chemistry of Materials*. 2003;15(10):1957-62.
- 6 https://en.wikipedia.org/wiki/Optical_fiber
7. <http://www.thenetworkencyclopedia.com/entry/fiber-optic-cabling/>.
8. <http://www.technetinfo.co.th/knowledge/78-about-fiber-optic.html>
9. Marazuela M, Moreno-Bondi M. Fiber-optic biosensors—an overview. *Analytical and bioanalytical chemistry*. 2002;372(5-6):664-82.
10. Pollock CR. *Fundamentals of optoelectronics*: Irwin; 1995.
11. Leung A, Shankar PM, Mutharasan R. A review of fiber-optic biosensors. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2007;125(2):688-703.
12. Sharma AK, Gupta B. On the sensitivity and signal to noise ratio of a step-index fiber optic surface plasmon resonance sensor with bimetallic layers. *Optics Communications*. 2005;245(1):159-69.
13. Homola J, Yee SS, Gauglitz G. Surface plasmon resonance sensors: review. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 1999;54(1):3-15.
14. Andrade C, Abdalla DSP, Oliveira MD, Faulin T, Hering V. *Biosensors for detection of Low-Density Lipoprotein and its modified forms*: INTECH Open Access Publisher; 2011.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

15. Eustis S, El-Sayed MA. Why gold nanoparticles are more precious than pretty gold: noble metal surface plasmon resonance and its enhancement of the radiative and nonradiative properties of nanocrystals of different shapes. *Chemical Society Reviews*. 2006;35(3):209-17.
16. Cobley CM, Chen J, Cho EC, Wang LV, Xia Y. Gold nanostructures: a class of multifunctional materials for biomedical applications. *Chemical Society Reviews*. 2011;40(1):44-56.
17. Willets KA, Van Duyne RP. Localized surface plasmon resonance spectroscopy and sensing. *Annu Rev Phys Chem*. 2007;58:267-97.
18. Cao J, Sun T, Grattan KT. Gold nanorod-based localized surface plasmon resonance biosensors: A review. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2014;195:332-51.
19. Murphy CJ, Gole AM, Hunyadi SE, Stone JW, Sisco PN, Alkilany A, et al. Chemical sensing and imaging with metallic nanorods. *Chemical Communications*. 2008(5):544-57.
20. McCartney EJ. *Optics of the atmosphere: scattering by molecules and particles*. New York, John Wiley and Sons, Inc, 1976 421 p. 1976;1.
21. Tempelman LA, King KD, Anderson GP, Ligler FS. Quantitating staphylococcal enterotoxin B in diverse media using a portable fiber-optic biosensor. *Analytical biochemistry*. 1996;233(1):50-7.
22. Kleinjung F, Bier FF, Warsinke A, Scheller FW. Fibre-optic genosensor for specific determination of femtomolar DNA oligomers. *Analytica Chimica Acta*. 1997;350(1):51-8.
23. Ferreira A, Werneck M, Ribeiro R. Development of an evanescent-field fibre optic sensor for *Escherichia coli* O157: H7. *Biosensors and Bioelectronics*. 2001;16(6):399-408.
24. Preejith P, Lim C, Kishen A, John M, Asundi A. Total protein measurement using a fiber-optic evanescent wave-based biosensor. *Biotechnology letters*. 2003;25(2):105-10.
25. Geng T, Morgan MT, Bhunia AK. Detection of low levels of *Listeria monocytogenes* cells by using a fiber-optic immunosensor. *Applied and environmental microbiology*. 2004;70(10):6138-46.
26. Usha SP, Mishra SK, Gupta BD. Fiber optic hydrogen sulfide gas sensors utilizing ZnO thin film/ZnO nanoparticles: A comparison of surface plasmon resonance and lossy mode resonance. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2015;218:196-204.
27. Shrivastav AM, Mishra SK, Gupta BD. Fiber optic SPR sensor for the detection of melamine using molecular imprinting. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2015;212:404-10.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

28. Lin H-Y, Huang C-H, Lu S-H, Kuo I-T, Chau L-K. Direct detection of orchid viruses using nanorod-based fiber optic particle plasmon resonance immunosensor. *Biosensors and Bioelectronics*. 2014;51:371-8.
29. Devi RV, Doble M, Verma RS. Nanomaterials for early detection of cancer biomarker with special emphasis on gold nanoparticles in immunoassays/sensors. *Biosensors and Bioelectronics*. 2015;68:688-98.
30. Chau L-K, Lin Y-F, Cheng S-F, Lin T-J. Fiber-optic chemical and biochemical probes based on localized surface plasmon resonance. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2006;113(1):100-5.
31. Lin T-J, Chung M-F. Detection of cadmium by a fiber-optic biosensor based on localized surface plasmon resonance. *Biosensors and Bioelectronics*. 2009;24(5):1213-8.
32. Hsieh B-Y, Chang Y-F, Ng M-Y, Liu W-C, Lin C-H, Wu H-T, et al. Localized surface plasmon coupled fluorescence fiber-optic biosensor with gold nanoparticles. *Analytical chemistry*. 2007;79(9):3487-93.
33. Chang Y-F, Chen R-C, Lee Y-J, Chao S-C, Su L-C, Li Y-C, et al. Localized surface plasmon coupled fluorescence fiber-optic biosensor for alpha-fetoprotein detection in human serum. *Biosensors and Bioelectronics*. 2009;24(6):1610-4.
34. Bremer K, Roth B. Fibre optic surface plasmon resonance sensor system designed for smartphones. *Optics express*. 2015;23(13):17179-84.
35. Hsu W-T, Hsieh W-H, Cheng S-F, Jen C-P, Wu C-C, Li C-H, et al. Integration of fiber optic-particle plasmon resonance biosensor with microfluidic chip. *Analytica Chimica Acta*. 2011;697(1):75-82.
36. Cao J, Tu MH, Sun T, Grattan KT. Wavelength-based localized surface plasmon resonance optical fiber biosensor. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2013;181:611-9.
37. Zeng, Q., et al., Quantitative immunochromatographic strip biosensor for the detection of carcinoembryonic antigen tumor biomarker in human plasma. *Am. J. Biomed. Sci*, 2009. 1(1): p. 70-79.
38. Chandradoss, S.D., et al., Surface passivation for single-molecule protein studies. *Journal of visualized experiments: JoVE*, 2014(86).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

39. F. Al-Kazazz, K. Al-Imarah, s.I. Al-Hasnawi, L. Agelmashotjafar, B. Abdul-Majeed, A Simple method for synthesis, purification and concentration stabilized goldnanoparticles, Int J Engine Res Appl. ISSN, (2013) 2248-9622.
40. S.A. Maier, M.L. Brongersma, P.G. Kik, H.A. Atwater, Observation of near-field coupling in metal nanoparticle chains using far-field polarization spectroscopy, Physical Review B, 65 (2002) 193408.
41. S. Link, M.A. El-Sayed, Size and temperature dependence of the plasmon absorption of colloidal gold nanoparticles, The Journal of Physical Chemistry B, 103 (1999) 4212-4217.
42. <https://nanohybrids.net/pages/plasmonics>



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Chiang Mai J. Sci. 2018; 45(5) : 2168-2177

<http://epg.science.cmu.ac.th/ejournal/>

Contributed Paper

Gold-nanoparticle-based Fiber Optic Sensor for Sensing the Refractive Index of Environmental Solutions

Nongluck Hounkhamhang* [a], Sittan Charoensuwan [a], Onanong Sonthipakdee [a],
Kawin Nawattanapaiboon [b], Armote Somboonkaew [c] and Ratthasart Amarit [c]

[a] College of Nanotechnology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Ladkrabang 10520, Thailand.

[b] Materials Science and Engineering Programme, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand.

[c] National Electronics and Computer Technology Center (NECTEC), Pathumthani 12120, Thailand.

* Author for correspondence; e-mail: nongluck.ho@kmitl.ac.th

Received: 1 November 2017

Accepted: 30 April 2018

ABSTRACT

Here an optical fiber modified with gold nanoparticles was successfully fabricated to sense the refractive index of a chemical solution surrounding its surface, with the potential of utilizing this sensor as a biosensing device. Gold nanoparticles, with an average diameter ~ 20 nm, were synthesized via the citrate reduction method and used to functionalize the glass core of an optical fiber. The sensing principle, which is based on localized surface plasmon resonance, requires the metal gold nanoparticles to be exposed to both the incident and absorbing lights, with the potential detection capabilities determined from the observed light intensity measurement. The optical fiber was uncladded at its center to expose the glass core fiber, and gold nanoparticles were immobilized on the exposed surface using a silane coupling agent. The sensitivity of the gold-nanoparticle-modified optical fibers in measuring the refractive index changes of a solution was compared for unclad lengths ranging between 1 and 2 cm. The attenuation of light depended on both the refractive index of solution and the length of the unclad fiber. The results showed that the fiber sensitivity increased as the unclad length increased due to greater amount of gold on the surface. Antibody-A, which has a specific binding to antigen-A, was then covalently linked to the fiber surface via an amide bond to demonstrate the potential bio-sensing platform of this sensor. The antibody-A functionalized optical fiber was used to detect the red blood cell samples in groups A, B, and O, where it effectively detected both the specific and non-specific binding signals. This fiber optic biosensor therefore provides a low-cost and simple fabrication setup that has potential field applications. Moreover, this setup could potentially be applied to detect other types of whole cell samples.

Keywords: fiber optic, gold nanoparticle, refractive index sensor, optical sensor

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. INTRODUCTION

Biosensors have recently been receiving increased attention due to their potential applications in environmental detection and clinical diagnostic research [1, 2]. The biosensor consists of two main parts, the biological sensing element and the transducer that converts the biological interaction into a readable signal. The use of the label-free biosensor technique has the advantage of not requiring fluorescent molecules for the analyte detection. The surface plasmon resonance (SPR) technique is a well-known label-free technique for biomolecular detection. SPR is the phenomenon where the frequency of an incident light that propagates to the metal-dielectric interface resonates with the oscillating electrons on the metal surface [3]. SPR is an optical-based technique that senses the change in the refractive index of the solution near the metal surface. The key advantages of an SPR sensor are its high sensitivity, fast response time, real-time monitoring capability, and label-free approach, as mentioned above. However, SPR sensors are still difficult to manufacture, because the setup is bulky, requiring a prism and also a gold film on the glass surface.

The localized surface plasmon resonance (LSPR) biosensor is another tool that is employed to detect biomolecules. The principle is based on the SPR phenomenon, which occurs in the metal nanoparticles instead of the bulk metallic film. Here the nanoscale size of the nanoparticles is smaller than the wavelength of the light source, which can therefore be excited by the light source, and the resonance frequency of the nanoparticles is dependent on the refractive index of nanoparticle surface interface [4, 5]. These fiber-optic-based biosensors can respond to the interaction between the

analyte and the immobilizing ligand due to the generation of an evanescent field near the nanoparticle surface as the light propagates through the optical fiber. The evanescent field excites the conductive electrons of the nanoparticle, which results in the increased absorption and scattering of the light source [6].

The advantages of the LSPR sensor are its small size and its simple fabrication. Here we perform the LSPR biosensor in a transmission-based fiber-optic sensor by using a gold-coated optical fiber with different unclad lengths. The simple setup and sensitivity of the gold-coated optical fibers in different refractive index solutions is examined. The ability of the sensor to detect biomolecules is confirmed by studying the interaction between immobilized antibody-A and antigen-A on the red blood cell surface for analyte detection.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 Reagents and Materials

Gold (III) chloride hydrate (HAuCl_4), sodium citrate tribasic dehydrate, (3-Aminopropyl)triethoxysilane (APTES), 11-Mercaptoundecanoic acid (11-MUA), (3-Dimethylaminopropyl)-N-ethylcarbodiimide hydrochloride (EDC), and N-Hydroxysuccinimide (NHS) were purchased from Sigma-Aldrich. A multimode optical fiber (model FT400 UMT) was purchased from Thorlabs, USA, with core and cladding diameters of 400 and 430 μm , respectively. The phosphate buffer saline (PBS) tablets that were used were from PT Biogen Scientific. The antibody-A and red blood cell samples were purchased from the Thai Red Cross Society, Thailand. All solutions were prepared using distilled (DI) water.

2.2 Preparation of the Gold Nanoparticles

The gold solution was synthesized following the procedure outlined in a previous report [7]. A 100-mL solution of 0.01% HAuCl_4 was heated to a boil in a round bottle flask, and 1.5 mL of 1% sodium citrate was then added to the solution. The solution turned blue, and then changed to a red-violet color. The solution continued to boil for another 10 min, and was then removed from the heat. The solution was stirred for 15 min, and the gold solution was stored in a refrigerator until use. The absorbance spectrum of the gold solution was measured with a mini-spectrometer (TG series, Hamamatsu).

2.3 Gold Nanoparticle on the Modified Optical Fiber Surface

The 20-cm-long optical fibers were uncladded at their centers, with lengths of 1, 1.5, and 2 cm chosen for this analysis. The unclad region was abraded and cleaned in acetone for 20 min, followed by a DI water rinse and drying with N_2 gas. The 5% APTES solution in ethanol was prepared, and the glass core fiber was incubated in the solution for 2 h. The fiber was then rinsed with ethanol and DI water ten times before the next incubation in the synthesized gold nanoparticle solution overnight. After that, the glass core of the fiber was rinsed with DI water to remove any excess gold nanoparticles from the surface, followed by drying with N_2 gas and storage in desiccators until it was used. The depositions of gold nanoparticles on the unclad optical fiber were examined by field-emission scanning electron microscopy (FE-SEM) using a JEOL JSM-7800F Prime microscope. An energy dispersive X-ray analysis (EDS) was performed on the gold-coated optical fiber to confirm the presence of gold on the surface.

2.4 Refractive Index Measurements

The 0.5-10% glycerol solutions were prepared such that the solutions had different refractive index values (1.334 to 1.350). The setup for the optical fiber experiments was constructed with the white light source (Type-A GCS, Mightex) connected to the mini-spectrometer using the gold-coated optical fiber in the middle. The sample measurements were made in a small acrylic chamber, with the chamber placed to cover the sensing region of the gold-coated fiber that could then be moved during the alteration of the samples. The series of glycerol solutions were added into the chamber, each possessing a volume of 150 μL , with the light intensity spectrum then collected for each solution. The transmission intensity decreased as the refractive index increased. The normalized intensity was calculated from the sample signal (I_s) divided by the reference signal (I_r), which was then evaluated to obtain the refractive index sensitivity. The signal was converted to % transmittance by $(I_s/I_r) \times 100\%$ to assess the biosensor platform.

2.5 Functionalization of the Gold Nanoparticle-optical Fiber with the Antibody Probe

The sensing region of the gold-coated optical fiber was immersed in 10 mM of 11-MUA in methanol solution for 18 h. The self-assembled monolayer of 11-MUA was functionalized on the gold-coated surface, which provided the carboxylic as the terminate functional group. The excess 11-MUA was washed with methanol and then rinsed with DI water ten times. An EDC/NHS solution at 0.2/0.05 M was used to incubate the sensing region for 10 min, followed by the PBS buffer, to activate the carboxylic group. Then, 150 μL of antibody-A in sodium acetate (pH = 5) was added

into the chamber and left until the reaction of antibody linked onto the surface for 15 min. The PBS buffer was then used to wash away any loosely bound antibodies. The rest of the activated carboxylic group on the surface was blocked with ethanolamine solution for 10 min, followed by another PBS buffer wash. The gold-coat optical fiber functionalized with the antibody-A probe was then ready to use for measuring the specific antigen.

2.6 Detection of Antigens on the Red Blood Cell Surface

The modified optical fiber with gold nanoparticles was used to measure the antigens on the red blood cell surface to assess the capability of the optical fiber for biomolecular detection. The 5% red blood cell sample solutions of groups A, B, and O were tested with the immobilized antibody-A on the gold-coated optical fiber. A red blood cell sample volume of 150 mL was added into the small chamber, with the unclad region of the fiber positioned inside. This chamber possessed the flexibility to move the fiber in and out, as well as change the sample solution, as described in section 2.4. The spectrum intensity of the PBS buffer was collected before and after immersing the sensing region into the red blood cell sample. The specific and non-specific signals were compared to the change in % transmittance ($\Delta\%T$) of the PBS buffer before and after immersing the sensor in the red blood cell sample.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Gold Nanoparticle on the Modified Optical Fiber

The ultraviolet-visible (UV-Vis) absorption of the synthesized gold solution was detected using a mini-spectrometer, with the absorbance spectrum shown in

Figure 1. The gold colloid had a maximum absorption (λ_{max}) peak at ~ 520 nm. This absorbance peak can be calculated to the size of a spherical gold nanoparticle of ~ 23 nm, where we followed the calculation method employed in a previous report [8] that analyzed the sizes of uncoated spherical gold nanoparticles in water using UV-Vis spectra.

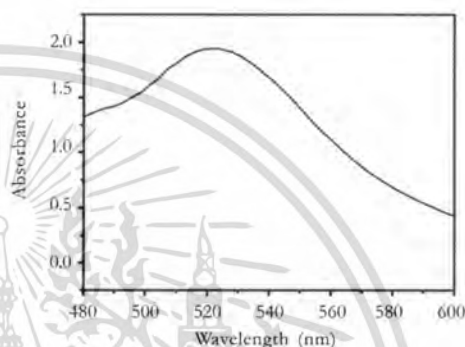


Figure 1. Absorbance spectrum of the synthesized gold solution.

The optical fibers were uncladded at the center for 1, 1.5, and 2 cm. The unclad region was incubated in APTES solution to modify the surface of the glass core fiber with the terminal amine functional group. The hydrolyzed ethoxy group of APTES reacted with the surface of glass fiber and extended the amine end chain, making it available for further reaction. The amine-terminal surface was then incubated in the gold solution, and the gold nanoparticles were reacted with the amine functional group, causing the gold to adhere on the surface of the glass fiber. This adhesion was due to the strong affinity between the positive charge of amine functional group and the negative charge of gold nanoparticles, which generated a sufficient electrostatic interaction. The schematic of the gold nanoparticles that coated the glass core of the optical fiber is

shown in Figure 2a. The gold-coated optical fiber can be seen by the naked eye from the color change at the unclad region of the optical fiber, with the result shown in Figure 2b.

The topographical and elemental information of the gold-coated optical fiber and bare glass core of the optical fiber were observed by field emission scanning electron microscopy (FE-SEM) and energy dispersive x-ray spectroscopy (EDS), respectively, as shown in Figure 3. The smooth surface of the optical fiber before coated with gold nanoparticles view in magnification 50000X show in Figure 3a. The optical fiber

after coated with gold nanoparticles displays a spherical shape of the gold nanoparticles covering on the surface at the unclad region (Figure 3b), with an average gold particle size of ~20-50 nm and some small agglomerates being observed. From EDS results, the Au peak is presented on about 13.32%Wt of the gold-coated optical fiber (Figure 3d) when compared with the bare glass core optical fiber, where no the Au peak is observed (figure 3c). These results confirmed that the functionalization of gold onto the glass core surface performed well.

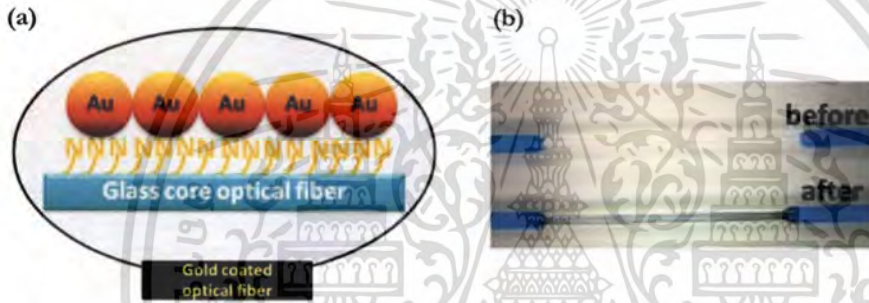


Figure 2. (a) Schematic of the gold-coated optical fiber. (b) Image of the optical fiber before (upper) and after (lower) it was coated with gold nanoparticles.

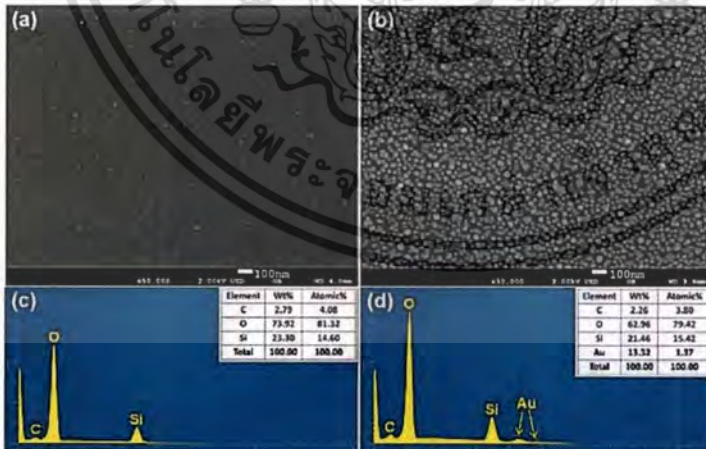


Figure 3. Topographical FE-SEM image and EDS results showing the elemental information of the optical fiber (a), (c) before and (b), (d) after it was coated with gold nanoparticles.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 Refractive Index Measurements of the Gold-coated Optical Fiber

In this experiment, gold-coated optical fibers with three unclad lengths (1, 1.5, and 2 cm) were tested in glycerol solutions with different refractive index values, with the gold non-coated optical fiber used as the control condition. The signal of the fiber optic evanescent field absorbance measurements was normalized using the intensity of light measured in the glycerol solution (I_r) divided by the intensity of light measured in the water or blank solution (I_s).

The light attenuation at an absorbing wavelength is defined by the following equations [9-11],

$$-\log \frac{I_r}{I_s} = \eta_p \alpha L + \log \frac{NA_r}{NA_s} \quad (1)$$

and

$$\eta_p = \frac{\kappa \lambda}{2\pi r NA_s} \quad (2)$$

where η_p is the fraction of the total light intensity in the evanescent field, κ is a constant, λ is the wavelength of light, r is the radius of the fiber, α is the absorptivity of the gold-

coated fiber, L is the fiber length, NA_r is the numerical aperture of cladding bare fiber, and NA_s is the numerical aperture of unclad optical fiber coated gold nanoparticles. $NA_r = \sqrt{n_1^2 - n_2^2}$ and $NA_s = \sqrt{n_1^2 - n_m^2}$, where n_1 is the refractive index of the core fiber, n_2 is the refractive index of cladding of the bare fiber in blank solution, and n_m is the refractive index of the gold-coated fiber immersed in the sample solution.

The refractive index dependence involves the absorptivity, with the second term explaining the light loss, as shown in equation 1. The first term shows that the light intensity decreases by the absorption of light in the cladding through the evanescent field. This absorbance depends on the absorptivity, which increases for a higher refractive index, a greater concentration of gold nanoparticles coated on the fiber, a longer fiber length, and a smaller fiber radius [10,12]. Figure 4 shows the measurement setup of the sensor, which consists of a light source and a spectrometer that are connected by an optical fiber, with the data signal transferred to the computer.

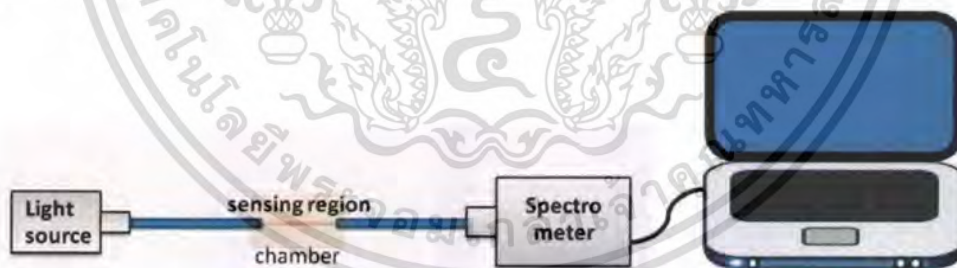


Figure 4. The setup of the gold nanoparticle-based fiber optic sensor.

The gold-coated optical fiber was used to measure the glycerol solution from 0.5-10% (v/v), where the glycerol concentration or refractive index of the solution increased the light intensity, which led to a decrease in the transmitted optical signal, with

the transmitted light spectrum shown in Figure 5. The changes in the transmitted light spectrum of the gold non-coated optical fiber did not depend on an increase (or decrease) in the surrounding refractive index due to the fact that the LSPR phenomenon

was not occurring in the optical fiber (Figure 5a). However, the signal from the transmitted light spectrum of the gold-coated optical fiber decreased when the refractive index increased (Figure 5b). These results

were caused by the absorption of light into the fiber through the evanescent field that was enhanced by the gold coating on the surface and increased by the higher surrounding refractive index.

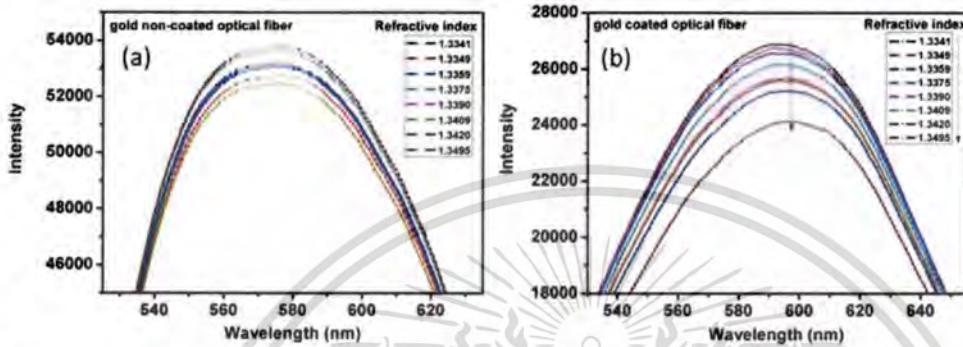


Figure 5. The light intensity of (a) the gold non-coated optical fiber and (b) the gold-coated optical fiber for different refractive index values in glycerol solution.

Here the effectiveness of the gold-coated optical fiber at different unclad lengths, 1, 1.5, and 2 cm, was determined via a signal intensity experiment in glycerol solution. The gold non-coated optical fibers were used as the control condition. The signal intensity was normalized with the blank solution to obtain the base line intensity, with the baseline then recorded when the optical fiber was immersed in the PBS solution. The normalized intensity of each sensor was plotted versus refractive index, which is shown in Figure 6. The signal of each gold-coated optical fiber decreased as the refractive index increased, which was caused by the increased absorption of evanescent field due to the gold-coated surface at the higher refractive indices. But the transmitted light spectrum of the gold non-coated optical fiber did not depend on an increase (or decrease) in the surrounding

refractive index. Each unclad gold-coated optical fiber possessed a different sensitivity, which is shown in Figure 6, where the sensitivity of the unclad fiber is defined by the slope of the normalized intensities plotted as a function of refractive index. The 2 cm unclad optical fiber showed the highest sensitivity, 14.30 a.u./RIU, with the 1 and 1.5 cm unclad fibers possessing lower sensitivities, at 5.20 and 7.75 a.u./RIU, respectively. However, no trend in the signal changes was observed for the gold non-coated optical fibers as the refractive index of the solutions increased. The sensor resolution can be calculated as three times the standard deviation ($3 \times \text{S.D.}$) of the noise signal divided by the sensitivity of each gold-coated optical fiber, which is 4.80×10^{-4} , 2.33×10^{-4} , and 9.80×10^{-5} RIU for the 1, 1.5, and 2 cm unclad optical fibers, respectively.

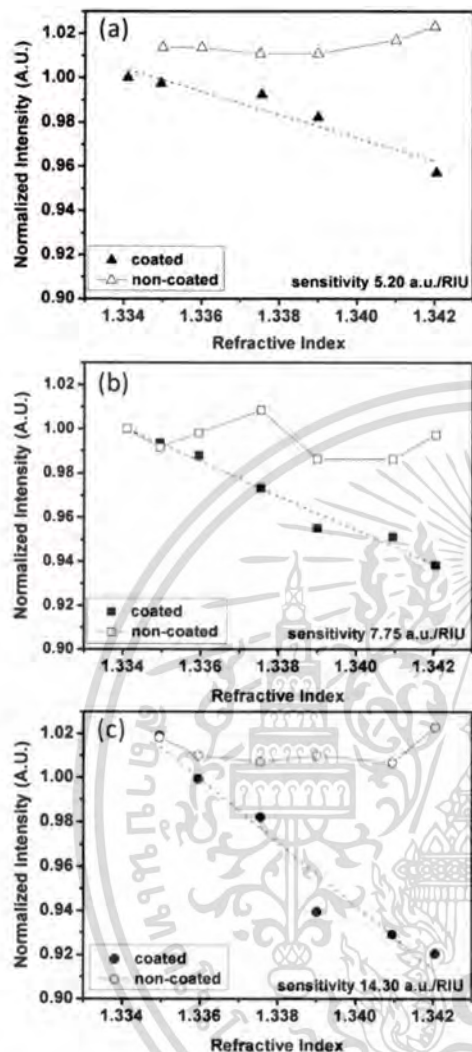


Figure 6. The normalized intensities of the non-coated and gold-coated optical fiber for a range of refractive index values and the following unclad lengths: a) 1 cm, b) 1.5 cm, and c) 2 cm.

It was observed that the sensitivity of the optical fiber increased when the unclad region of the optical fiber was increased. This is due to more gold adhering onto the fiber with the longer unclad length, which then has a larger evanescent field effect on

the signal. However, although the 2 cm unclad length provided the best sensitivity, the analyzed data only had an fit of 0.94, which is lower than the fit of 0.97 for the 1.5 cm unclad length. This may be due to the non-uniformity of the gold nanoparticles coated on the glass core fiber. We therefore investigated the ability of these two unclad gold-coated optical fibers to measure the biomolecule.

3.3 Biomolecular Detection

If the LSPR sensor can detect the refractive index change of the environmental solution, then the analyte molecule can be measured without labeling. The gold-coated optical fibers with unclad lengths of 1.5 and 2 cm were used to test the feasibility of sensing this biomolecule interaction. Antibody-A was immobilized on the sensor surface for the detection of the analyte, antigen-A, on the red blood cell samples.

The results showed that the two unclad lengths, 1.5 and 2 cm, could detect the antigen on red blood cell A (A-RBCs), which had a higher signal change than that of red blood cells O (O-RBCs) and B (B-RBCs). This is due to the specific interaction of the immobilized antibody-A and the antigen-A analyte in solution, which causes an increase in the refractive index due to the presence of analyte molecules on the sensor surface; the results are shown in Figure 7. A comparison of the 1.5 and 2 cm unclad lengths indicates that the 2 cm unclad optical fiber possessed a higher specific signal for A-RBCs (7.7 $\Delta\%$ T) than that of the 1.5 cm unclad optical fiber (3.4 $\Delta\%$ T), but the non-specific signal with O-RBCs also increased. These higher specific signals are due to the longer gold-coated area, which had a higher sensitivity for detection. The specific signal of antibody-A and antigen-A on the A-RBCs was then compared to the non-specific signal

of antibody-A with O-RBCs and B-RBCs for the 2 cm unclad length optical fiber. The non-specific signal was defined as the noisy signal around $\pm 1.1\%T$, which indicated a signal to noise (S/N) ratio of 7. However,

the non-specific signal noise of the 1.5 cm unclad length optical fiber was around $\pm 0.3\%T$, with a S/N ratio of 11.3, which is better than that of the 2 cm unclad length.

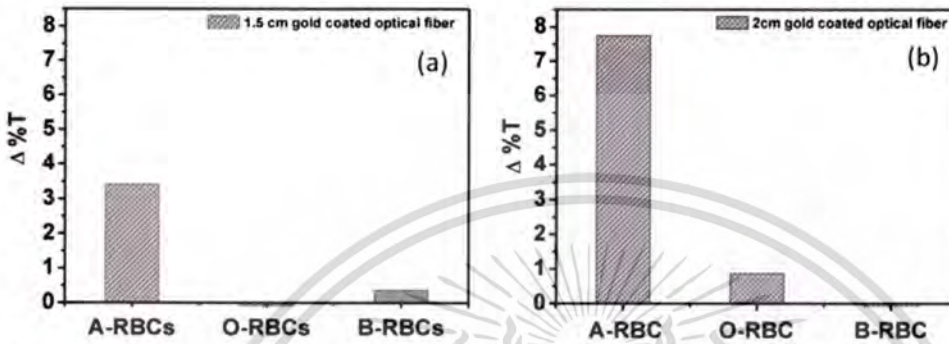


Figure 7. The signal change from the interaction of immobilized antibody-A and antigen on red blood cell groups A, B, and O for: (a) a 1.5 cm unclad optical fiber and (b) a 2 cm unclad optical fiber.

Both the 1.5 and 2 cm unclad optical fibers, modified with gold nanoparticles, can be used for detecting the interaction of immobilized antibody-A and antigen-A in solution. However, some non-specific binding signals may occur due to the physical adsorption of the red blood cell on the surface that can be washed from the surface with a mild base solution. This signal can therefore be set as the noise signal that is detected by this sensor, with a comparison of the S/N ratio between the 1.5 and 2 cm unclad fibers conducted to determine the best unclad length of the gold-coated optical fiber.

4. CONCLUSIONS

Here we demonstrated that an optical fiber can be modified with gold nanoparticles to fabricate a label-free bio-sensing device that has the advantages of a simple implementation and setup. Gold-coated optical fibers with different unclad lengths were analyzed

to optimize the sensitivity of the sensor. Unclad lengths of 1-2 cm were investigated, with the longer unclad length possessing higher sensitivity due to a larger area of gold coated onto the surface, which provided a higher evanescent field effect. However, the S/N ratio is key parameter in determining the effectiveness of a biomolecular detection platform. The optical fiber with an unclad length of 1.5 cm provided a better S/N ratio for the detection of antigen-A on the red blood cell surface than the 2 cm unclad fiber. This gold-coated optical fiber, with the 1.5 cm unclad length, has the potential to serve as a portable device for the detection of biomolecules where a compact size is necessary.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KREF015904).

REFERENCES

- [1] Malhotra B.D. and Chaubey A., *Sens. Actuators B*, 2003; **91**: 117-127.
- [2] Rogers K., *Anal. Chim. Acta*, 2006; **568**: 222-231.
- [3] Homola J., Yee S.S. and Gauglitz G., *Sens. Actuators B*, 1999; **54**: 3-15.
- [4] Underwood S. and Mulvaney P., *Langmuir*, 1994; **10**: 3427-3430.
- [5] Haes A.J. and Van Duyne R.P., *J. Am. Chem. Soc.*, 2002; **124**: 10596-10604.
- [6] Lin H.Y., Huang C.H., Chen S.H., Liu Y.C., Chang W.Z. and Chau L.K., *Biosens. Bioelectron.*, 2013; **41**: 268-274.
- [7] Grabar K.C., Freeman R.G., Hommer M.B. and Natan M.J., *Anal. Chem.*, 1995; **67**: 735-743.
- [8] Haiss W., Thanh N.T., Aveyard J. and Fernig D.G., *Anal. Chem.*, 2007; **79**: 4215-4221.
- [9] Nath N. and Chilkoti A., *Anal. Chem.*, 2002; **74**: 504-509.
- [10] Chau L.K., Lin Y.F., Cheng S.F. and Lin T.J., *Sens. Actuators B*, 2006; **113**: 100-105.
- [11] Conzen J.P., Burck J. and Ache H.J., *Appl. Spectrosc.*, 1993; **47**: 753-763.
- [12] DeGrandpre M.D. and Burgess L.W., *Anal. Chem.*, 1988; **60**: 2582-2586.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Acceptance and Invitation Letter

3 September 2017

Dear **Dr. Nongluck Hounkamhang**

On behalf of the MRS Thailand 2017 organizing committee, I am pleased to inform that your abstract has been accepted for the presentation at The First Materials Research Society of Thailand International Conference (1st MRS Thailand International Conference), which will be held at Convention Center, The Empress Hotel, Chiang Mai, Thailand during October 31st - November 3rd 2017. We take this opportunity to invite you to give the presentation of your research, as detailed below, at this 1st MRS Thailand International Conference,

Paper title: Gold Nanoparticle-Based Fiber Optic Sensor for Sensing Refractive Index of Environmental Solution

Type of presentation: **Poster**

Paper ID: **S11-P6**

Symposium 11: **Sensors, Organic Electronics and Printed Electronics**

Please kindly be reminded that full papers need to be submitted on-site at the Registration Desk (Submission Deadline is 1 November 2017, by 12.00 PM) by the authors. The manuscript submission form, 3 hard copies and 1 CD (MS word and pdf files) are required for a complete submission. For more information, please visit our website at

<http://www.mrs-thailand2017.science.cmu.ac.th>

If you have further inquiries, please contact us at email: 1mrsthailand2017@gmail.com

We are looking forward to meeting you in Chiang Mai, Thailand.

Sincerely yours,

(Prof. Dr. Santi Maensiri, Ph.D.)

President

Materials Research Society of Thailand

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Gold Nanoparticle-Based Fiber Optic Sensor for Sensing Refractive Index of Environmental Solution

Nongluck Houngkamhang^{a*}, Sittan Charoensuwan^a, Kawin Nawattanapaiboon^b,
Armote Somboonkaew^c, and Ratthasart Amarit^c

^aCollege of Nanotechnology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Ladkrabang 10520, Thailand
^bMaterials Science and Engineering Programme, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand
^cNational Electronics and Computer Technology Center (NECTEC), Pathumthani 12120, Thailand

*Corresponding Author's E-mail: nongluch.ho@kmitl.ac.th

Abstract

In this research, the optical fiber modified with gold nanoparticles was successfully fabricated for sensing the refractive index of chemical solution surrounding the surface that aims to serve as a biosensing device. Gold nanoparticles with diameter 20-40 nm were synthesized via citrate reduction method and used to functionalize on the glass core optical fiber. The principle based on the localized surface plasmon resonance (LSPR) that occurred in the metal gold nanoparticle and sensing signal by intensity measurement. The optical fiber was unclad at the middle to expose the glass fiber core and gold nanoparticles were immobilized on the surface through silane coupling agent. The sensitivity of gold nanoparticle modified-optical fibers for measuring refractive index change of solution was compared between different unclad length at 1 and 2 centimeter. To demonstrate biosensing platform of this sensor the antibody-A which has specific binding to antigen-A was covalently linked to the fiber surface via an amide bond. The functionalized optical fiber was used to detect the red blood cell samples in group A B and O to show the specific and unspecific binding signal. This fiber optic biosensor provided the low cost and easy to fabricate setup and can be applied in the other type of whole cell sample.

Keywords: Fiber optic, gold nanoparticle, refractive index sensor, optical sensor

Content

Symposium 11: Sensors, Organic Electronics and Printed Electronics

Oral Presentation

S11_O12	Detection of amine odor from the human body for tracking the health status Tanthip Eamsa-ard, Thara Seesaard and Teerakiat Kerdcharoen	11_20
S11_O13	Ethylene oxide sensor based on flame-spray-made Er-doped SnO ₂ nanoparticulate thick films Kanitha Inyawilert, Anurat Wisitsoraat, Adisorn Tuantranont, Sukon Phanichphant and Chaikarn Liewhiran	11_21
S11_O14	Analysing Semiconductor Bandgap States in Thin Film Transistors Alexander D. Mottram, Simon Hunter and Pichaya Pattanasattayavong	11_22
S11_O15	Sensing Low Concentration of Nitric Oxide Based on Flame-spray-made-PtO ₂ /SnO ₂ Nanoparticulate Films Suparat Singkammo, Anurat Wisitsoraat, Adisorn Tuantranont, Sukon Phanichphant and Chaikarn Liewhiran	11_23
S11_O16	The NO ₂ gas-sensing characteristics sensitivity of WO ₃ nanotubes/SnO ₂ nanoparticles prepared by thermal oxidation of WS ₂ nanotubes and flame spray pyrolysis Jirasak Sukunta, Anurat Wisitsoraat, Adisorn Tuantranont, Sukon Phanichphant and Chaikarn Liewhiran	11_24
S11_O17	One-step synthesis of flame-spray-made Bi ₂ WO ₆ layered-perovskite/electrolytically exfoliated graphene composite film for ethanol sensing Matawee Pungsang, Anurat Wisitsoraat, Adisorn Tuantranont, Sukon Phanichphant and Chaikarn Liewhiran	11_25
S11_O18	Electrochemical sensor based on reduced graphene oxide/ PEDOT:PSS/Ag nanocomposites for taste detection Pranlekha Traiwatcharanon, Gun Chaloeipote and Chatchawal Wongchoosuk	11_26
S11_O19	Fabrication of low-cost and low-powered gas sensors based on single-sided bonding process Kata Jaruwongringsee, Thitima M. Daniels, Ditsayut Phokharatkul, Adisorn Tuantranont and Anurat Wisitsoraat	11_27
S11_O20	Simultaneous Electrochemical Detections of Hg, Pb and Cd using 3D Graphene-Carbon nanotubes-Polydimethyl Siloxane Electrodes Thitima M. Daniels, S. Pakapongpan, D. Phokharatkul, K. Jaruwongringsee, K. Maturos, A. Tuantranont and A. Wisitsoraat	11_28
S11_O21	A Host-Guest Interactions Approach on Graphene Foam Electrode for Selective Sensor of Bisphenol A Saithip Pakapongpan, Thitima Maturos-Daniels, Ditsayut Phokharatkul, Anurat Wisitsoraat and Adisorn Tuantranont	11_29
S11_O22	Fabrication of flexible humidity sensors on plastic foil Wannasiri Wichaiwong, Watcharapon Pummara, Napatporn Promsawat, Prawpraewa Pimpawat, Khwanruedee Changsarn and Pattanaphong Janphuang	11_30

Poster Presentation

S11_P1	Development of β -CD-modified QCM sensor for sensing human body odor Hak-Jun Do and Seong-Ho Choi	11_31
S11_P2	Light amplification of total reflection condition Yoshizawa, Mimura and Neo	11_32
S11_P4	Development of Environmental Friendly Silver Amalgam Electrode for Determination of Cadmium and Lead via Anodic Stripping Voltammetry C. Thunkhamrak, K. Moolsarn and J. Jakmunee	11_33
S11_P5	Optical Measurement and Theoretical Study of Zinc-hexadecafluorophthalocyanine Thin Film for Volatile Organic Compounds Detection and Their application Treenet Thepudom and Teerakiat Kerdcharoen	11_34
S11_P6	Gold Nanoparticle-Based Fiber Optic Sensor for Sensing Refractive Index of Environmental Solution Nongluck Houngkamhang, Sittan Charoenstrwan, Kawin Nawattanaparbhoon, Armote Somboonkaew and Rattasart Amarit	11_35
S11_P7	Electrochemical sensor based on Pt nanoparticles on polydopamine-reduced graphene oxide (Pt/PDA/RGO) nanocomposites modified screen printed carbon electrode for simultaneous detection of dopamine, uric acid and ascorbic acid in human serum and urine Pijika Mool-amkha, Kontad Uunnunkad, Surin Saipanya and Jaroon Jakmunee	11_36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ACCEPTANCE LETTER

Dear Dr. Nongluck Houngkamhang

College of Nanotechnology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang,
Ladkrabang 10520, Thailand.

Submission ID No: EEMI-DEC18-102 (Please use this ID for future correspondence)

Manuscript Title: The Study and Development of Fiber-optic Biosensors by Using Gold Nanoparticles and Performance on Detection of Antigen-Antibody Binding

Co-Author(s): Sittan Charoensuwan, Channarong Chueaiarrom, Armote Somboonkaew,
Ratthasart Amarit

We are thankful for your paper submission in our International Conference on Environmental Management, Engineering Technology, Multimedia & Image Processing (EEMI) December 27-28, 2018 at Osaka International Convention Center, Japan.

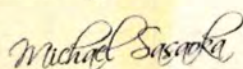
Based on systematic double blind peer reviews process our scientific and review committee has accepted your paper for Oral presentation at EEMI-2018, Osaka, Japan. Your paper will be included in the conference proceeding which will be published with ISBN in a CD form and online publication on the website.

You are cordially invited to share your academic research and findings with the participants of this event. As a presenter you are requested to bring your power point Slides with you at the day of conference. You are encouraged to register as soon as possible to avail the early bird discount. For details please visit at: <http://consortium-et.com/upcoming-events/eemi-annual-conference/>.

In case your paper is multi-authored and more than one author will attend the conference, each attending author needs to register and pay the registration fee for the conference separately.

We look forward to seeing you in Japan. Should you need any further assistance, please contact the conference secretariat at eemi@consortium-et.com.

Kind regards



Michael Sasaoka
Conference Manager
EEMI-2018, Secretariat
Email: michael@consortium-et.com



สัญญาเลขที่ KREF...015904...

โครงการ ภาษาไทย การพัฒนาไฟเบอร์ออปติกเซนเซอร์สำหรับเป็นอุปกรณ์อย่างง่ายสำหรับตรวจวัดสารชีวโมเลกุล/สารเคมี

ภาษาอังกฤษ Development of Simple Fiber Optic Sensor for Detection of Biological/Chemical substance

รายงานสรุปการเงินรอบ 6 เดือน

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย ผู้รับทุน นางสาวนงลักษณ์ ทวงกำแหง

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 15 มกราคม 2560 ถึงวันที่ 31 กรกฎาคม 2560

สรุปงบประมาณค่าใช้จ่ายที่ใช้นับตั้งแต่เริ่มทำการวิจัยถึงปัจจุบัน

หมวดค่าใช้จ่าย	งบประมาณรวมทั้งโครงการ	ค่าใช้จ่ายจากรายงานครั้งก่อน	ค่าใช้จ่ายงวดปัจจุบัน	รวมค่าใช้จ่ายสะสมถึงปัจจุบัน	คงเหลือ (หรือเกิน)
งบบุคลากร : ค่าจ้างชั่วคราว					
งบดำเนินงาน					
ค่าตอบแทน	94,020	-	23,010	23,010	71,010
ค่าใช้สอย	55,100	-	-	-	55,100
ค่าวัสดุ	79,800	-	45,355.84	45,355.84	34,444.16
ค่าสาธารณูปโภค	-	-	-	-	-
งบลงทุน: ค่าครุภัณฑ์	20,000	-	20,000	20,000	0
รวม	24,8920	-	88,365.84	88,365.84	160558.16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จำนวนเงินที่ได้รับและจำนวนเงินที่ใช้จ่าย

งวดเงินที่ได้รับ	จำนวนเงินที่ได้รับ(บาท)	เมื่อ (ระบุนัน เตือน ปี)
งวดที่ 1	228,920	15/3/17
ดอกเบีย ครั้งที่ 1	305.33	25/6/17
ฯลฯ		
รวม	229,225.33	1

งวดที่	จำนวนเงินที่ใช้จ่าย (บาท)	
งวดที่ 1	68,365.84	6/9/17
ฯลฯ		
รวม	68,365.84	2

จำนวนเงินคงเหลือ **1** - **2** 160,859.49 บาท



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สัญญาเลขที่ KREF...015904...

โครงการ ภาษาไทย การพัฒนาไฟเบอร์ออปติกเซนเซอร์สำหรับเป็นอุปกรณ์อย่างง่ายสำหรับตรวจวัดสารชีวโมเลกุล/สารเคมี

ภาษาอังกฤษ Development of Simple Fiber Optic Sensor for Detection of Biological/Chemical substance

รายงานสรุปการเงินรอบ 12 เดือน

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย ผู้รับทุน นางสาวนงลักษณ์ หวงกำแหง

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 1 สิงหาคม 2560 ถึงวันที่ 31 ธันวาคม 2560

สรุปงบประมาณค่าใช้จ่ายที่ใช้นับตั้งแต่เริ่มทำการวิจัยถึงปัจจุบัน

หมวดค่าใช้จ่าย	งบประมาณรวมทั้งโครงการ	ค่าใช้จ่ายจากรายงานครั้งก่อน	ค่าใช้จ่ายงวดปัจจุบัน	รวมค่าใช้จ่ายสะสมถึงปัจจุบัน	คงเหลือ (หรือเกิน)
งบบุคลากร :ค่าจ้างชั่วคราว					
งบดำเนินงาน					
ค่าตอบแทน	94,020	23,010	71,010	94,020	0
ค่าใช้สอย	55,100	-	2,395	2,395	52,705
ค่าวัสดุ	79,800	45,355.84	34,444.16	79,800	0
ค่าสาธารณูปโภค	-	-	-	-	-
งบลงทุน: ค่าครุภัณฑ์	20,000	20,000	-	20,000	0
รวม	248,920	88,365.84	107,849.16	196,215	52,705

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จำนวนเงินที่ได้รับและจำนวนเงินที่ใช้จ่าย

งวดเงินที่ได้รับ	จำนวนเงินที่ได้รับ(บาท)	เมื่อ (ระบุนวัน เดือน ปี)
งวดที่ 1	228,920	15/3/17
ดอกเบี้ย ครั้งที่ 1	305.33	25/6/17
ดอกเบี้ย ครั้งที่ 2	441.37	25/12/17
ฯลฯ		
รวม	229,666.7	①

งวดที่	จำนวนเงินที่ใช้จ่าย (บาท)	
งวดที่ 1	68,365.84	6/9/17
งวดที่ 2	107,849.16	6/12/17
ฯลฯ		
รวม	176,215	②

จำนวนเงินคงเหลือ ① - ② 53,451.7 บาท



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สัญญาเลขที่ KREF...015904...

โครงการ ภาษาไทย การพัฒนาไฟเบอร์ออปติกเซนเซอร์สำหรับเป็นอุปกรณ์อย่างง่ายสำหรับตรวจวัดสารชีวโมเลกุล/สารเคมี

ภาษาอังกฤษ Development of Simple Fiber Optic Sensor for Detection of Biological/Chemical substance

รายงานสรุปการเงินรอบ 6 เดือน(ปีที่ 2)

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย ผู้รับทุนนางสาวนงลักษณ์ หวงก่ำแหง

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม 2561 ถึงวันที่ 31 กรกฎาคม 2561

สรุปงบประมาณค่าใช้จ่ายที่ใช้นับตั้งแต่เริ่มทำการวิจัยถึงปัจจุบัน

หมวดค่าใช้จ่าย	งบประมาณรวมทั้งโครงการ	ค่าใช้จ่ายจากรายงานครั้งก่อน	ค่าใช้จ่ายงวดปัจจุบัน	รวมค่าใช้จ่ายสะสมถึงปัจจุบัน	คงเหลือ(หรือเกิน)
งบบุคลากร:ค่าจ้างชั่วคราว					
งบดำเนินงาน					
ค่าตอบแทน	142,020	94,020	-	94,020	48,000
ค่าใช้สอย	151,000	2,395	21,580	23,975	127,025
ค่าวัสดุ	166,000	79,800	36,405	116,205	49,795
ค่าสาธารณูปโภค	-	-	-	-	-
งบลงทุน: ค่าครุภัณฑ์	20,000	20,000	-	20,000	0
รวม	479,020	196,215	57,985	254,200	224,820

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จำนวนเงินที่ได้รับและจำนวนเงินที่ใช้จ่าย

งวดเงินที่ได้รับ	จำนวนเงินที่ได้รับ(บาท)	เมื่อ (ระบุวัน เดือน ปี)
งวดที่ 1	228,920	15/3/17
ดอกเบีย ครั้งที่ 1	305.33	25/6/17
ดอกเบีย ครั้งที่ 2	441.37	25/12/17
งวดที่ 2	214,250	16/03/18
ฯลฯ		
รวม	443,916.7	❶

งวดที่	จำนวนเงินที่ใช้จ่าย (บาท)	
งวดที่ 1	68,365.84	6/9/17
งวดที่ 2	107,849.16	6/12/17
งวดที่ 3	57985	31/7/18
ฯลฯ		
รวม	234,200	❷

จำนวนเงินคงเหลือ ❶ - ❷ 209,716.7 บาท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อมูลประวัติส่วนตัว ผู้เสนอโครงการ

ประวัติส่วนตัว

ชื่อ-สกุล นางสาวนงลักษณ์ หวงกำแหง

เพศ ชาย หญิง วันเดือนปีเกิด 1 ตุลาคม 2527 อายุ 34 ปี

หน้าที่การงานปัจจุบัน อาจารย์

ตำแหน่ง ผู้ช่วยศาสตราจารย์

เริ่มทำงาน ณ สจล. ตั้งแต่เดือน มกราคม .พ.ศ. 2557

เงินเดือนประจำ 41,000 บาท เงินประจำตำแหน่ง 5,600

ประวัติการศึกษา

ชื่อย่อปริญญา	สาขา	สถาบันที่จบ	ปีที่จบ
วท.บ.	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมี) เกียรตินิยมอันดับ 2	มหาวิทยาลัยนเรศวร	2549
ปร.ด.	ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (วิทยาศาสตร์และวิศวกรรมวัสดุ)	มหาวิทยาลัยมหิดล	2556

ประสบการณ์วิจัยหรือสาขาที่ชำนาญ Biosensors, immunoassay, surface modification, protein or DNA chip

ทุนการศึกษาและทุนวิจัยที่เคยได้รับ

ปี พ.ศ.	ทุนการศึกษาและทุนวิจัย	สถาบันที่ให้
2003-2006	Human Resource Development in Science Project (Science Achievement Scholarship of Thailand, SAST)	The Thailand Research Fund
2007-2012	The Royal Golden Jubilee Ph.D. Program (The Thailand Research Fund)	Office of the Higher Education Commission

ผลงานวิจัย/งานสร้างสรรค์

ผลงานวิจัย/งานสร้างสรรค์ที่ตีพิมพ์เผยแพร่ (ระดับชาติและนานาชาติ)

- (1) B. Sutapun, A. Somboonkaew, R. Amrit, **N. Hougkamhang**, T. Sriksirin, A multichannel surface plasmon resonance sensor using a new spectral readout system without moving optics, Sensors and Actuators B 156 (2011) 312-318.
- (2) Chathirat N, Atthi N, Hruanun C, Poyai A, Osotchan T, Leasen S, Hougkamhang N, Sriksirin T, Dangtip S. Detection of Protein-DNA Interaction by Using Optical Micro-grating Biosensor.
- (3) C. Puttharugsa, T. Wangkam, **N. Huangkamhang**, O. Gajanandana , O. Himananto, B. Sutapun, R. Amarit, A. Somboonkaewe, T. Sriksirin, Development of surface Plasmon resonance imaging for detection of Acidovorax avenae subsp. citrulli (Aac) using specific monoclonal antibody, Biosensors and Bioelectronics 26 (2011) 2341–2346.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- (4) C. Puttharugsa, T. Wangkam, **N. Hougkamhang**, S. Yodmongkol, O. Gajanandana, O. Himananto, B. Sutapun, R. Amarit, A. Somboonkaew, T. Sriksirin, A polymer surface for antibody detection by using surface plasmon resonance via immobilized antigen, *Current Applied Physics* 13 (2013) 1008-1013
- (5) **N. Hougkamhang**, A. Vongsakulyanon, P. Peungthum, K. Sudprasert, P. Kitpoka, M. Kunakorn, B. Sutapun, R. Amarit, A. Somboonkaew, and T. Sriksirin, ABO Blood-Typing Using an Antibody Array Technique Based on Surface Plasmon Resonance Imaging, *Sensors* 13 (2013) 11913-11922.
- (6) S. Sasipongpana, Y. Rayanasukha, **N. Hougkamhang**, S. Pratontep, S. Prichanont, P. Sritongkam, AChE/agarose gel Coated on ISFET for Methyl-Parathion Sensors, The 10th Annual Siam Physics Congress (SPC), Sofitel Krabi Phokeethra Golf and Spa Resort, Krabi, Thailand, 20-22 May 2015, p. 1-4.
- (7) **N. Hougkamhang**, A. Vongsakulyanon, P. Peungthum, K. Sudprasert, P. Kitpoka, M. Kunakorn, B. Sutapun, R. Amarit, A. Somboonkaew, and T. Sriksirin, Serum ABO blood typing by Surface Plasmon Resonance Technique, *Advanced Materials Research* 1131 (2016) 71-74.
- (8) K. Inpor, **N. Hougkamhang**, S. Pratontep, N. Thananukool, S. Prichanont, B. Chayasombat, and C. Thanachayanont. "Mesocellular Foam-Modified Water-Gated Organic Field Effect Transistor Enzyme Biosensors for Chlorpyrifos Detection." *Journal of Nanoelectronics and Optoelectronics* 11, no. 5 (2016): 575-578.
- (9) S. Sasipongpana, Y. Rayanasukha, S. Prichanont, C. Thanachayanont, S. Porntheeraphat, **N. Hougkamhang***. "Extended-gate field effect transistor (EGFET) for carbaryl pesticide detection based on enzyme inhibition assay" *Materials Today: Proceedings* 4 (2017) 6458-6465
- (10) **Nongluck Hougkamhang***, Sittan Charoensuwan, Onanong Sonthipakdee, Kawin Nawattanapaiboon, Armote Somboonkaew, and Ratthasart Amarit. "Gold-Nanoparticle-Based Fiber Optic Sensor for Sensing the Refractive Index of Environmental Solutions" *Chiang Mai J. Sci.* 2018; 45(5) : 2168-2177
- (11) Eiad-ua A, Amnaphiang P, Asawaworarit P, **Hougkamhang N**, Chollacoop N, Fuji M. Zeolite P from kaolin via hydrothermal method. In *AIP Conference Proceedings* 2018 Sep 5 (Vol. 2010, No. 1, p. 020021). AIP Publishing.

การเสนอผลงานวิชาการ

Oral presentation

- (1) **N. Hougkamhang**, C. Puttharugsa, T. Wangkam, S. Yodmongkol, B. Sutapun, R. Amarit, A. Somboonkaew, and T. Sriksirin, Comparison Between 2-Dimensional and 3-Dimensional Sensor Surface for The Detection of Antigen-Antibody Binding by Using Surface Plasmon Resonance Sensor (SPRs), *Pure and Applied Chemistry International Conference (PACCON)*, Naresuan University, Phitsanulok, Thailand. 14-16 January 2009.
- (2) **N. Hougkamhang**, C. Puttharugsa, T. Wangkam, S. Yodmongkol, B. Sutapun, R. Amarit, A. Somboonkaew, and T. Sriksirin, The comparison between different immobilization approach for anti-HSA on an interaction with HSA on dextran and mixed self assemble monolayer by using surface plasmon

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

resonance biosensor, 8th Asian Conference on Chemical Sensors (ACCS 2009), Deagu, Korea. 11-13 November 2009.

(3) **N. Hougkhang**, C. Puttharugsa, T. Wangkam, A. Vongsakulyanon, M. Kunakorn, B. Sutapun, R. Amarit, A. Somboonkaew, and T. Sriksirin, The Human Serum Albumin (HSA) Detection by Immobilized Monoclonal and Polyclonal Anti-HSA on Dextran Surface Compare with Mixed Self Assemble Monolayer by Using Surface Plasmon Resonance Technique, 1st Polymer Conference of Thailand (PCT-1), Convention Center, Chulabhorn Research Institute, Bangkok, Thailand. 7-8 October 2010.

(4) **N. Hougkhang**, A. Vongsakulyanon, P. Peungthum, K. Sudprasert, P. Kitpoka, M. Kunakorn, B. Sutapun, R. Amarit, A. Somboonkaew, and T. Sriksirin., Serum ABO blood typing by Surface Plasmon Resonance Technique, The 4th Thailand International Nanotechnology Conference (NanoThailand 2014), The Thailand Science Park Convention Center, Pathumthani, Thailand. 26-28 November 2014.

(5) Sittan Charoensuwan, Channarong Chueaiarrom, Armote Somboonkaew, Ratthasart Amarit, **Nongluck Hougkhang***, "The Study and Development of Fiber-Optic Biosensors by Using Gold Nanoparticles and Performance on Detection of Antigen-Antibody Binding", International Conference on Environmental Management, Engineering Technology, Multimedia & Image Processing (EEMI-2018), Osaka International Convention Center, Japan, 27-28 December 2018

(6) Supanat Sasipongpana, **Nongluck Hougkhang***, Sirapat Pratontep, Yossawat Rayanasukha, Seeroong Prichanont, Chanchana.Thanachayanont, Win Bunjongpru, Wutthinan Jeamsaksiri, Supanit Porntheerapat, and Jiti Nukeaw. "Pesticide Detection Based on Ion Sensitive Field Effect Transistor" *Siam Physics Congress 2017*, Rayong, Thailand. 24-26 May 2017.

Poster presentation

(1) **N. Hougkhang**, C. Puttharugsa, T. Wangkam, S. Yodmongkol, B. Sutapun, R. Amarit, A. Somboonkaew, and T. Sriksirin, The Study of Preparation of Dextran Surface for Using in SPR Technique, The 34th Congress on Science and Technology of Thailand, Queen Sirikit National Convention Center, Thailand, 31 October – 2 November 2008.

(2) **N. Hougkhang**, C. Puttharugsa, T. Wangkam, S. Yodmongkol, B. Sutapun, R. Amarit, A. Somboonkaew, and T. Sriksirin, The Application of SPR for Investigation of Anti-HSA and HSA Binding, RGJ-Ph.D. Congress X (10th), 3-5 April 2009.

(3) **N. Hougkhang**, A. Vongsakulyanon, P. Peungthum, K. Sudprasert, P. Kitpoka, M. Kunakorn, B. Sutapun, R. Amarit, A. Somboonkaew, and T. Sriksirin, ABO-Rh blood grouping with whole blood by array SPR imaging technique, 26th International Microprocesses and Nanotechnology Conference (MNC 2013), Royton Sapporo, Hokkaido, Japan, 5-8 November 2013.

(4) **Nongluck Hougkhang***, Sittan Charoensuwan, Onanong Sonthipakdee, Kawin Nawattanapaiboon, Armote Somboonkaew, and Ratthasart Amarit. "Gold-Nanoparticle-Based Fiber Optic Sensor for Sensing the

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Refractive Index of Environmental Solutions"1st MRS Thailand International Conference. Convention Center, The Empress Hotel, Chiang Mai, Thailand October 31st - November 3rd, 2017

(5) Naruenard Jaikong, Yossawat Rayanasukha, Darinee Phomyothin, Seerong Prichanont, Chanchana Thanachayanont, Supanit Porntheeraphat and **Nongluck Hougkanghang***. Applying an Extended Gate Field Effect Transistor for Carbamate Pesticide Detection. International Conference on Science and Technology of Emerging Materials 2018 (STEMa2018). 18-20 July 2018, Pattaya, Thailand.

(6) Nuttarika Laokhetkit, Jenjera Maleson, Naruenard Jaikong, Siraprapa Lhosupasirirat, Kamol Maikrang, Toemsak Srihirin, and **Nongluck Hougkanghang***. The Study of Extended Gate Field-Effect Transistor Modified with SiO₂ Nanoparticle as a pH Sensor. International Conference on Science and Technology of Emerging Materials 2018 (STEMa2018). 18-20 July 2018, Pattaya, Thailand.

ผลงานสิทธิบัตร/สิ่งประดิษฐ์/งานสร้างสรรค์ (ศิลปะ หรือ อื่น ๆ)

(1) กรรมวิธีการสร้างพอลิเมอร์เยื่อเลือกผ่านโมเลกุลสำหรับอุปกรณ์ตรวจวัดสารยูเรียและสารประกอบอินทรีย์ในน้ำแบบไมโครชิปโพลิเมอร์ (Polymeric Selective Membrane for Non-Enzyme Detection of Urea and Organic Compound)

(สิทธิบัตรไทย : เลขที่คำขอ 1501000653 : 6 กุมภาพันธ์ 2558)

(2) เซนเซอร์ชิปเอสพีอาร์แบบอาร์เรย์สำหรับการจำแนกหมู่เลือดชนิดเอบีโอ (SPR Array Sensor Chip for ABO Blood Typing) (สิทธิบัตรไทย : เลขที่คำขอ 1301000757 : 15 กุมภาพันธ์ 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อมูลประวัตินักวิจัยที่เลี้ยง

ประวัติส่วนตัว

ชื่อ-สกุล นายเต็มศักดิ์ ศรีศิริรินทร์

หน้าที่การงานปัจจุบัน อาจารย์

ตำแหน่งทางวิชาการ ผศ.ดร.

ตำแหน่งทางบริหาร -

สถานที่ติดต่อ (ทำงาน) ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ถ.พระรามที่ 6 แขวงทุ่งพญาไท เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400

ประวัติการศึกษา

ชื่อย่อปริญญา	สาขา	สถาบันที่จบ	ปีที่จบ
Ph.D.	Polymer Science	Case Western Reserve University, Cleveland, Ohio, USA	1998
MS	Polymer Science	Case Western Reserve University, Cleveland, Ohio, USA	1995
B.Sc. (2 nd honor in Chemistry)	Chemistry	Kingmongkut University of Technology, Bangkok, Thailand	1991

ประสบการณ์วิจัยหรือสาขาที่ชำนาญ Nanomaterials, Polymer-inorganic composites and nanocomposites, Optical and electrical properties of polymer, Surface and interfacial properties of thin polymeric films, Biological sensors

ผลงาน

ผลงานวิจัย/งานสร้างสรรค์ที่ตีพิมพ์เผยแพร่ ทั้งระดับชาติและนานาชาติ (ย้อนหลัง 5 ปี ตั้งแต่ 2554-2558)

- 1) C. Puttharugsa, T. Wangkam, N. Huangkamhang, O. Gajanandana, O. Himananto, B. Sutapun, R. Amarit, A. Somboonkaew, T. **Sriksirin***, Development of surface plasmon resonance imaging for detection of *Acidovorax avenae* subsp *citrullii* (Aac) using specific monoclonal antibody, *BIOSENSORS & BIOELECTRONICS*, **26 (5), 2341-2346 (2011)**
- 2) S. Changsam, J.D. Mendez, C. Weder, T. **Sriksirin**, P. Supaphol, Electrospinning of Light-emitting Fibers from a Tertiary Blend Solution of an Inert Polymer and Two Conjugated Polymers, *CHIANG MAI JOURNAL OF SCIENCE*, **38, 2, 193-209 (2011)**
- 3) B. Sutapun, A. Somboonkaew, R. Amrit, N. Hounkamhang, T. **Sriksirin**, A multichannel surface plasmon resonance sensor using a new spectral readout system without moving optics, *SENSORS AND ACTUATORS B-CHEMICAL*, **156, 1, 312-318 (2011)**
- 4) T. Kunthic, B. Promdonkoy, T. **Sriksirin**, P. Boonserm, Essential role of tryptophan residues in toxicity of binary toxin from *Bacillus sphaericus*, *BMB REPORTS*, **44, 10, 674-679 (2011)**
- 5) S. Saengmee-anupharb, S. Thaweboon, T. Amomsakchai, B. Thaweboon, S. Dechkunakorn, T. Suddhasthira, T. **Sriksirin***, The preparation and antimicrobial effect of AgZrP/nylon 6,10 fibers used as dental hygiene materials, *JOURNAL OF APPLIED POLYMER SCIENCE*, **124, 5, 4016-4024 (2012)**
- 6) T. Wangkam, S. Yodmongkol, J. Disrattakit, B. Sutapun, R. Amarit, A. Somboonkaew, T. **Sriksirin***, Adsorption of bovine serum albumin (BSA) on polystyrene (PS) and its acid copolymer, *Current Applied Physics*, **12, 1, 44-52 (2012)**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 7) S. Rugmai; C. Sirisathitkul; K. Chokprasombat; P. Rangsanga, P. Harding, **T. Sriksirin**; P. Jantaratana, Small-angle X-ray scattering spectra of iron based magnetic fluids, *MATERIALI IN TEHNOLOGIJE*, 46, 4, 369-373 (2012)
- 8) R. Chantarachindawong, W. Luangtip, P. Chindaudom, T. Osotchan; **T. Sriksirin***, Development of the scratch resistance on acrylic sheet with basic colloidal silica (SiO₂)-methyltrimethoxysilane (MTMS) nanocomposite films by sol-gel technique, *Canadian Journal of Chemical Engineering*, 90, 4, 888-896 (2012).
- 9) S. Saengmee-Anupharb, **T. Sriksirin**, B. Thaweboon, S. Thaweboon, T. Amornsakchai · S. Dechkunakorn, T. Suddhasthira, A. Kamaguchi, Antimicrobial effects of silver zeolite, silver zirconium phosphate silicate and silver zirconium phosphate against oral microorganisms, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(1):47-52 (2013).
- 10) C. Puttharugsa, T. Wangkam, N. Hounkamhang, S. Yodmongkol, O. Gajanandana, O. Himananto, B. Sutapun, R. Amarit, A. Somboonkaew, **T. Sriksirin***, A polymer surface for antibody detection by using surface plasmon resonance via immobilized antigen, *CURRENT APPLIED PHYSICS*, 13, 6, 1008-1013 (2013)
- 11) K. Singkhamanan, B. Promdonkoy, **T. Sriksirin**, P. Boonserm, Amino acid residues in the N-terminal region of the BinB subunit of *Lysinibacillus sphaericus* binary toxin play a critical role during receptor binding and membrane insertion,, *JOURNAL OF INVERTEBRATE PATHOLOGY*, 114, 1, 65-70 , (2013)
- 12) N. Hounkamhang, A. Vongsakulyanon, P. Peungthum, K. Sudprasert, P. Kitpoka, M. Kunakorn, B. Sutapun, R. Amarit, A. Somboonkaew, **T. Sriksirin***, ABO Blood-Typing Using an Antibody Array Technique Based on Surface Plasmon Resonance Imaging, *SENSORS*, 13, 9, 11913-11922, (2013)
- 13) N. Kalapat, T. Amornsakchai, **T. Sriksirin**, Surface modification of biaxially oriented polypropylene (BOPP) film using acrylic acid-corona treatment: Part II. Long term aging surface properties, *SURFACE & COATINGS TECHNOLOGY*, 234, 67-75, (2013)
- 14) S. Yodmongkol, R. Chantarachindawong, S. Thaweboon, B Thaweboon, T. Amornsakchai, **T. Sriksirin***,. The effects of silane-SiO₂ nanocomposite films on *Candida albicans* adhesion and the surface and physical properties of acrylic resin denture base material, *Journal of Prosthetic Dentistry*, 09, 112(6), (2014).
- 15) K. Sudprasert, P. Peungthum, A. Vongsakulyanon, R. Amarit, A. Somboonkaew, B. Sutapun, P. Kitpoka, M. Kunakorn, **T. Sriksirin***, Evaluation of agglutination strength by flow-induced cell movement assay based surface plasmon resonance (SPR) technique, *Analyst*, 11, 140(3), (2014).
- 16) P. Kamonwanon, S. Yodmongkol, R. Chantarachindawong, S. Thaweboon, B. Thaweboon, **T. Sriksirin***, Wear resistance of a modified polymethyl methacrylate artificial tooth compared to five commercially available artificial tooth materials *Journal of prosthetic dentistry*, 114(2):286-92. (2015)
- 17) K. Nawattanapaiboon, W. Kiatpathomchai, P. Santanirand, A. Vongsakulyanon, R. Amarit, A. Somboonkaew, B. Sutapun, **T. Sriksirin***, SPR-DNA array for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in combination with loop-mediated isothermal amplification, *Biosensors & Bioelectronics*, 12; 74:335-340 (2015).
- 18) C. Pipatpanukul, R. Amarit, A. Somboonkaew, B. Sutapun, A. Vongsakulyanon, P. Kitpoka, **T. Sriksirin**, M. Kunakorn, Microfluidic PMMA-based microarray sensor chip with imaging analysis for ABO and RhD blood group typing , *Vox Sanguinis* 07/2015, accepted (DOI: 10.1111/vox.12313)
- 19) S. Yodmongkol, S. Thaweboon, B. Thaweboon, C. Puttharugsa, B. Sutapun, R. Amarit, A. Somboonkaew, **T. Sriksirin***, Application of Surface Plasmon Resonance Biosensor for the Detection of *Candida albicans*, *Japanese Journal of Applied Physics*, accepted 2015
- 20) A. Vongsakulyanon, P. Kitpoka, M. Kunakorn, **T. Sriksirin***, Miltenberger Blood Group Typing by Real-Time Polymerase Chain Reaction (qPCR) Melting Curve Analysis in Thai Population, *Transfusion Medicine*, accepted 2015

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้