

การศึกษาและพัฒนาไฟเบอร์ออปติกไบโอเซนเซอร์โดยใช้อนุภาคทองคำนาโน
และการประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดคู่ปฏิกริยาแอนติเจน-แอนติบอดี

THE STUDY AND DEVELOPMENT OF FIBER-OPTIC BIOSENSORS BY
USING GOLD NANOPARTICLES (GNPS) AND APPLICATION
IN DETECTION OF ANTIGEN-ANTIBODY BINDING



สิทธันต์ เจริญสุวรรณ
SITTAN CHAROENSUWAN

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต
สาขาวิศวกรรมวัสดุนาโน
วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2558

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

THE STUDY AND DEVELOPMENT OF FIBER-OPTIC BIOSENSORS BY
USING GOLD NANOPARTICLES (GNPS) AND APPLICATION
IN DETECTION OF ANTIGEN-ANTIBODY BINDING



A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
BACHELOR OF ENGINEERING
IN NANOMATERIAL ENGINEERING
COLLEGE OF NANOTECHNOLOGY
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2015

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2015

COLLEGE OF NANOTECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

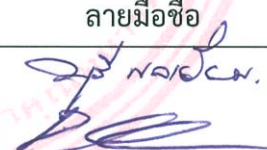


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาควิชานาโนวิทยาและนาโนเทคโนโลยี
วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
โครงการพิเศษ

หัวข้อโครงการพิเศษ การศึกษาและพัฒนาไฟเบอร์ออปติกไบโอเซนเซอร์โดยใช้อนุภาคทองนาโนและการประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดคู่ปฏิภิกิริยาแอนติเจน-แอนติบอดี

Special Project Title The Study and Development of Fiber-optic Biosensors by Using Gold nanoparticles (GNPs) and Application in Detection of Antigen-Antibody Binding

นักศึกษา นาย สิทธิพันธ์ เจริญสุวรรณ
รหัสประจำตัว 55110053
ปริญญา วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต
ภาควิชา นาโนวิทยาและนาโนเทคโนโลยี
สาขาวิชา วิศวกรรมวัสดุนาโน
ปีการศึกษา 2558
อาจารย์ที่ปรึกษา ดร. นงลักษณ์ หวงกำแหง

คณะกรรมการสอบโครงการพิเศษ		ลายมือชื่อ
ดร.มยุรี พลเยี่ยม		
ผศ.ดร.ดารินี พรหมโยธิน		
ดร.นงลักษณ์ หวงกำแหง		

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ภาควิชานาโนวิทยาและนาโนเทคโนโลยี วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบังอนุมัติให้
โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา หลักสูตรวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สาขาวิศวกรรมวัสดุนาโน

๗๘ ๓๖/๖๖
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุธี ชูติไพจิตร)
หัวหน้าภาควิชานาโนวิทยาและนาโนเทคโนโลยี
วันที่.....๑๗.....เดือน.....มิถุนายน.....พ.ศ. 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การศึกษาและพัฒนาไฟเบอร์ออปติกไบโอเซนเซอร์โดยใช้นาโนภาคทองนาโน และการประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดคูปฏิกิริยาแอนติเจน-แอนติบอดี
นักศึกษา	นาย สิทธิพันธ์ เจริญสุวรรณ
รหัสประจำตัว	55110053
ปริญญา	วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชา	วิศวกรรมวัสดุนาโน
พ.ศ.	2558
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร. นงลักษณ์ หวงกำแหง

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์หลักในการศึกษาและพัฒนาาระบบตรวจวัดทางชีวภาพด้วยเส้นใยแก้วนำแสงร่วมกับอนุภาคทองนาโน และอาศัยหลักการของปรากฏการณ์ localized Surface Plasmon Resonance (LSPR) ที่เกิดขึ้นในระบบ อนุภาคทองนาโนถูกสังเคราะห์โดยกระบวนการรีดักชัน ซึ่งได้อนุภาคขนาด 28 ± 2.47 20 ± 3.50 และ 10 ± 2.11 นาโนเมตร และถูกนำมาเคลือบบนชั้นแกนกลางของไฟเบอร์ที่เป็นแก้ว โดยการเชื่อมด้วยชั้น Self-Assembly-Monolayer (SAM) ที่เตรียมด้วยสารละลาย (3-Aminopropyl)triethoxysilane: APTES โดยทำการเปรียบเทียบระยะห่างของการปลอกชั้นแคลดดิ้งที่ 1 และ 2 เซนติเมตร ซึ่งผลของเงื่อนไขการปลอกที่ 2 เซนติเมตร มีค่าการตอบสนองที่สูงกว่าเงื่อนไข 1 เซนติเมตร 10 เท่า และทำการเปรียบเทียบขนาดของอนุภาคทองนาโนที่ใช้ในการเคลือบไฟเบอร์ พบว่าค่าการตอบสนองของสัญญาณเพิ่มสูงเมื่ออนุภาคทองนาโนมีขนาดเล็กลง ซึ่งพบว่าสัญญาณเพิ่มขึ้นถึง 10 เท่า และ 4 เท่า เมื่อเทียบขนาดเล็กที่สุด กับขนาดใหญ่ที่สุด และรองลงมา ตามลำดับ โดยเซนเซอร์ที่เตรียมขึ้นมีค่าความไวอยู่ที่ 4×10^6 A.U./RIU ด้วยการวัดในสารละลายกลีเซอรอลในช่วง 0.5 ถึง 2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีช่วงค่าดัชนีหักเหที่เพิ่มจาก 3.7×10^{-4} ถึง 2.9×10^{-3} และเซนเซอร์นี้มีความสามารถในการวัดซ้ำที่ดี นอกจากนี้มีการประยุกต์ใช้ไฟเบอร์ออปติกที่เคลือบอนุภาคทองในการทดสอบกับคูโปรตีนตัวอย่างแอนติบอดีของหมูโลहितเอ (A) และเซลล์เม็ดเลือดแดงจากหมูโลहितเอ บี และโอ ผลที่ได้พบว่าเซนเซอร์มีความจำเพาะเจาะจงกับแอนติเจนของหมูโลहितเอ A โดยไม่พบการตอบสนองต่อแอนติเจนของหมูโลहितเออื่นๆ และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารตัวอย่างเลือดทำให้ค่าสัญญาณเพิ่มขึ้น และสามารถใช้วัดซ้ำได้หลายครั้งโดยสัญญาณไม่ลดลง ดังนั้นผลของงานวิจัยนี้จึงเป็นแนวทางและสร้างโอกาสในการพัฒนาต่อยอระบบตรวจวัดเชิงแสงไฟเบอร์ออปติกเพื่อประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์หรือด้านอื่นๆ ต่อไปในอนาคต

Special Project Title	The Study and Development of Fiber-optic Biosensors by Using Gold nanoparticles (GNPs) and Application in Detection of Antigen-Antibody Binding
Student	Mr. Sittan Charonsuwan
Student DI	55110053
Degree	Bachelor of Engineering
Program	Nanomaterials Engineering
Year	2015
Special Project Advisor	Dr. Nongluck Houngkamhang

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 greatest and greater 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.

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษการศึกษาและพัฒนาไฟเบอร์ออปติกไปโอเซนเซอร์โดยใช้อุณหภูมิของนาโนและการประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดคู่ปฏิกิริยาแอนติเจน-แอนติบอดีสำเร็จจุลวงด้วยความอนุเคราะห์และสนับสนุนจาก ดร.นงลักษณ์ หวงกำแหง อาจารย์ที่ปรึกษา วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้คำแนะนำ ตรวจสอบ และให้ความช่วยเหลือมอบประสบการณ์และระเบียบวิธีการการทำวิจัยเชิงวิทยาศาสตร์ทุกแง่มุม รวมถึงการเพิ่มเติมและดัดแปลงภาพในการทำงานในเชิงวิทยาศาสตร์ของผู้วิจัย จนโครงการพิเศษฉบับนี้สำเร็จได้อย่างสมบูรณ์ ผู้วิจัยขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง และขอขอบพระคุณ ผศ. ดร. เต็มศักดิ์ ศรีศิริพันธ์ อาจารย์ที่ปรึกษาพิเศษ ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล เป็นอย่างสูงในการให้คำปรึกษาและความรู้ในการทำวิจัย รวมถึงการสั่งสอน เพื่อการเป็นบุคคลทำงานที่มีศักยภาพรอบด้าน พร้อมด้วยระเบียบวิธีการปฏิบัติงาน และเอื้อเฟื้อสถานที่ อุปกรณ์ เครื่องมือ สารชีวโมเลกุล และสารเคมี ในงานวิจัย และ ขอขอบพระคุณ นายอาโมทย์ สมบูรณ์แก้ว และ นายรัฐศาสตร์ อัมฤทธิ์ นักวิจัย ศูนย์เทคโนโลยีอิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์แห่งชาติ (NECTEC) เป็นอย่างยิ่ง ในการเอื้อเฟื้อเครื่องมือในการตรวจวัดแสงรวมถึงแหล่งกำเนิดแสง ในงานครั้งนี้ รวมถึงคำแนะนำ และความช่วยเหลือในงานวิจัยครั้งนี้

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณกำลังใจที่อบอุ่น และความเข้าใจจากครอบครัว ของผู้วิจัย ที่มีให้เสมอมา รวมถึงการสนับสนุนและการผลักดันให้ผู้วิจัยดำเนินมาถึงที่ตำแหน่งนี้ได้ เปรียบเสมือนแก่นและหัวใจสำคัญในการสร้างสรรค์งานวิจัยนี้ขึ้น ขอขอบคุณค่าและประโยชน์จากโครงการพิเศษนี้ ให้กับคณาจารย์วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง รวมถึงทางสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังด้วยแล้ว ยังขอมอบให้แก่ผู้มีพระคุณทุกท่านด้วยความเคารพยิ่ง

สิทธิรัตน์ เจริญสุวรรณ

สารบัญ

หน้า

ใบรับรองวิทยานิพนธ์.....	I
บทคัดย่อภาษาไทย.....	II
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	III
กิตติกรรมประกาศ.....	IV
สารบัญ.....	V
สารบัญตาราง.....	VIII
สารบัญภาพ.....	IX
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 จุดประสงค์ของการวิจัย.....	4
1.3 สมมติฐานของการวิจัย	4
1.4 ขอบเขตของการวิจัย	4
1.5 ขั้นตอนของการวิจัย	5
บทที่ 2 หลักการและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	6
2.1 หลักการที่เกี่ยวข้อง	6
2.1.1 ไบโอสเซนเซอร์ (Biosensors).....	6
2.1.2 อนุภาคทองคำนาโน Gold nanoparticles (GNPs).....	19
2.1.3 ไฟเบอร์ออปติก (Fiber optics: FO).....	25
2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	30
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	38
3.1 วัสดุและอุปกรณ์ในการดำเนินงานวิจัย	38
3.1.1 สารเคมีและสารชีวโมเลกุลในการวิจัย	38
3.1.2 ไฟเบอร์ออปติก (Fiber-optic : FO)	39
3.1.3 เครื่องมือวิเคราะห์ผล	39
3.2 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย.....	40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

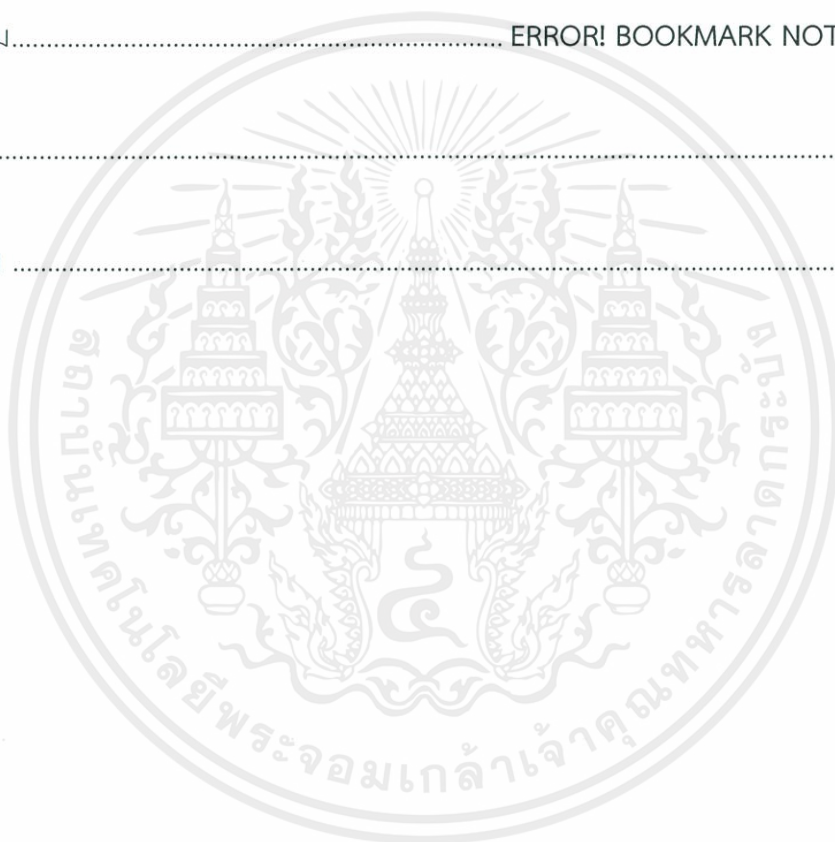
สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.2.1 การสังเคราะห์อนุภาคทองคำนาโน (Gold nanoparticles: GNPs)	40
3.2.2 การเตรียมสารเคลือบแอสเซมบลีโมโนเลเยอร์ (Self-assembled monolayer: SAM)	40
3.2.3 การเตรียมอนุภาคทองคำนาโนไฟเบอร์ออฟติคโอบีโอเซนเซอร์ (GNPs/FOB).....	40
3.2.4 การตรึงโมเลกุลหรือโครงสร้างโปรตีนและแอนติบอดีของหมู่โลหิต ABO	41
3.2.5 การเตรียมสารละลายแอนติเจนของหมู่โลหิต ABO	42
3.3 การตรวจวัดและวิเคราะห์ผล	43
3.3.1 การทดสอบความสามารถในการตอบสนองของเซนเซอร์ GNPs/FOB (Sensitivity).....	44
3.3.2 การทดสอบความเสถียรของเซนเซอร์ GNPs/FOB (Repeatability).....	44
3.3.3 การทดสอบ Ab-A/GNPs/FOB กับสารชีวโมเลกุลตัวอย่าง หมู่โลหิต ABO.....	45
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	50
4.1 การติดตั้งและสอบเทียบเครื่อง Spectrometer ในระบบ	50
4.2 ลักษณะและสมบัติทางแสงของอนุภาคทองคำนาโน (GNPs)	52
4.3 ลักษณะและสมบัติของ GNPs/FOB	54
4.3.1 การตรึง GNPs บนผิวไฟเบอร์ออฟติค และการทดลองผลของระยะความยาวในการปลูกไฟเบอร์ออฟติคชั้นนอกออก	54
4.3.2 การทดสอบ sensitivity ของ GNPs/FOB เมื่อเปลี่ยนแปลงขนาดของ GNPs ที่ใช้เป็นตัวขยายสัญญาณ (Amplifier)	60
4.3.3 การทดสอบความสามารถในการวัดซ้ำและความเสถียรของ GNPs/FOB.....	64
4.4 ลักษณะและสมบัติการตรวจวัดของเซนเซอร์ Ab-A/GNPs/FOB.....	66
4.4.1 การทดสอบการดูดกลืนแสง (Absorbance) ของหมู่โลหิต ABO	66
4.4.2 การทดสอบ Ab-A/GNPs/FOB เมื่อทดสอบกับตัวอย่างโลหิตหมู่ ABO	66
4.4.3 การทดสอบความสามารถในการวัดซ้ำและความเสถียรของ Ab-A/GNPs/FOB.....	74

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 5 สรุปผลการดำเนินงาน และข้อเสนอแนะ	76
5.1 สรุปผลการดำเนินงานวิจัย.....	76
5.2 ข้อเสนอแนะและแนวทางการศึกษาต่อ	77
บรรณานุกรม.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
ภาคผนวก	83
ประวัติผู้แต่ง	90



สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 สรุปการทบทวนวรรณกรรมจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	36
4.1 เปรียบเทียบความยาวคลื่นที่ดูดกลืนของสารละลายGNPs และ GNRs ระหว่างระบบในงานวิจัยและเครื่อง UV-visible spectroscopy.....	52
4.2 ขนาดของอนุภาคทองคำโนที่ความเข้มข้น 1%TSC ต่างๆ	52
4.3 การดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) ของ GNPs เจือไนโซต่างๆ.....	54
4.4 ค่าดัชนีหักเหและการเปลี่ยนแปลงของค่าดัชนีหักเหของสารละลายกลีเซอรอลใน PBS ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเทียบกับดัชนีหักเหของ PBS.....	58
4.5 ค่า sensitivity และ R^2 ในแต่ละเงื่อนไขการทดลอง.....	63
4.6 ค่าTransmittanceของแสงที่เจือไนโซต่างๆ.....	63
4.7 ความยาวคลื่นแสงที่ถูกโลหิตหมู่ต่างๆ ดูดกลืนมากที่สุด.....	66
4.8 สัญญาณการเปลี่ยนแปลงของแสงที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่รอบการวัดทั้งสามรอบ.....	75

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 องค์ประกอบโดยรวมของระบบเซนเซอร์แบบปกติ.....	6
2.2 องค์ประกอบโดยรวมของระบบไบโอเซนเซอร์.....	7
2.3 การจำแนกชนิดของไบโอเซนเซอร์.....	8
2.4 ตัวอย่างโมเลกุลในการตรวจวัดความเปลี่ยนแปลงสี.....	10
2.5 ตัวอย่างงานวิจัยที่ใช้ระบบ Colorimetric method.....	10
2.6 การเกิดปรากฏการณ์ SPR ของไบโอเซนเซอร์.....	11
2.7 โมเดลการเกิดแสงของโมเลกุลในรูปแบบของแถบชั้นพลังงาน.....	12
2.8 ตัวอย่างการเปล่งแสงฟลูออเรสเซนซ์ของฟลูออเรสเซนต์ไบโอเซนเซอร์.....	13
2.9 ไมโครอาร์เรย์ฟลูออเรสเซนต์ไบโอเซนเซอร์ และ สารละลายฟลูออเรสเซนต์ไบโอเซนเซอร์	13
2.10 ตัวอย่างรูปแบบโครงสร้างของการตรวจวัดทั้งทางแสงสามแบบโดยใช้เอมไซม์.....	14
2.11 การคำนวณหาค่าความไวในการตอบสนองของเซนเซอร์จากกราฟ.....	15
2.12 ตัวอย่างงานวิจัยในการทดสอบค่าความจำเพาะต่อสารที่มีหมู่ซัลเฟอร์.....	16
2.13 ตัวอย่าง Calibration curve ของตัวอย่างไบโอเซนเซอร์.....	17
2.14 ลักษณะสัญญาณแบบต่อเนื่องที่ได้รับจากเครื่องมือวัดหรือเซนเซอร์.....	17
2.15 ตัวอย่างสมการเส้นทำนายและการคำนวณหาค่า LOD.....	18
2.16 รูปบน Respond time แบบเพิ่มสัญญาณ รูปล่าง Respond time แบบลดสัญญาณ.....	19
2.17 สารละลายอนุภาคทองคำนาโนแบบแท่งที่ค่า aspect ratio ต่างๆ.....	20
2.18 รูปแบบการเกิด LSPR ของ GNPs และสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ GNPs.....	20
2.19 รูปแบบการเกิด LSPR ของ GNRs ทั้งสองแกน และ สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ GNRs.....	21
2.20 การเกิด Red shift ของสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ GNPs และสเปกตรัมการดูดกลืนแสงสูง ที่สุดที่ขนาดต่างๆ ของ GNPs.....	22
2.21 หน้าที่ของอนุภาคทองคำนาโนในระบบของไบโอเซนเซอร์ในการขยายสัญญาณ.....	23
2.22 การเกิด Surface Plasmon Resonance และ Evanescent field บนผิวของโลหะ.....	24
2.23 การเกิด Evanescent wave แบบทั่วไปเมื่อแสงกระทบรอยต่อระหว่างพื้นผิวของแก้วและ อากาศและเกิดการสะท้อนกลับหมด และ Penetration depth ของ Evanescent wave field.....	24
2.24 โครงสร้างของ Fiber-Optic.....	25

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
2.25 การเกิดการสะท้อนกลับหมดใน Fiber-Optic.....	25
2.26 ชนิดของไฟเบอร์ออปติก.....	26
2.27 รูปแบบการเดินทางของแสงผ่านไฟเบอร์ออปติกและการเกิด Evanescent wave รวมถึง penetration depth ที่เกิดขึ้น ด้วยมุมตกกระทบ θ	28
2.28 โครงสร้างของ GNPs/FOB โดยแสดงถึง Evanescent wave ที่เกิดขึ้นทั้งจากพื้นผิวของไฟเบอร์ออปติกและการเกิด LSPR.....	30
2.29 ตัวอย่างโครงสร้างของรูปแบบไบโอเซนเซอร์ แบบเป็น ZnO NRs ZnO platform SiNR และ Polymer imprint.....	31
2.30 โครงสร้าง SiNR และ Polymer imprint	32
2.31 โมเดลการจับตัวของ Cy5 antigen Immunoassay โดยใช้รูปแบบแซนนิชในการตรวจจับ และมี GNPsเป็นตัวช่วยในการขยายสัญญาณในการไปกระตุ้น Fluorescence.....	33
2.32 ความสัมพันธ์ของอัตราส่วนของแกนกลางไฟเบอร์ออปติก กับค่าสัญญาณที่ได้.....	33
2.33 แสดงสมบัติการนำเซนเซอร์กลับมาใช้ใหม่.....	34
2.34 โครงสร้างของไฟเบอร์ออปติกที่ใช้ GNPs และ GNRs.....	35
3.1 โครงสร้างของไฟเบอร์ออปติก (Fiber-optic) รุ่น FT-400 UMT (OH HIGH).....	39
3.2 ขั้นตอนการเตรียมอนุภาคทองนาโนไฟเบอร์ออปติกไบโอเซนเซอร์ (GNPs/FOB).....	41
3.3 อุปกรณ์ในการชำระละลาย APTES และ สารละลาย GNPs.....	41
3.4 โครงสร้างของ Ab/GNPs/FOB และโครงสร้างของ Ab/GNPs/FOB.....	43
3.5 ระบบการตรวจวัด GNPs/FOB.....	44
3.6 แผนภูมิขั้นตอนการสังเคราะห์อนุภาคทองนาโน.....	45
3.7 แผนภูมิขั้นตอนการเตรียมสารละลาย APTES (SAM Layer).....	46
3.8 แผนภูมิขั้นตอนการเตรียม GNPs/FOB.....	46
3.9 แผนภูมิขั้นตอนการฟังก์ชัน GNPs/FOB และการเก็บ (Stabilization) Ab-A/GNPs/FOB.....	47
3.10 แผนภูมิขั้นตอนการเตรียม Ag ของโลหิตต่างๆ.....	48
3.11 แผนภูมิขั้นตอนการวัดเพื่อหาค่า sensitivity.....	48
3.12 แผนภูมิขั้นตอนการวัดโปรตีนหมูโลหิต.....	49

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.1 การดูดกลืนแสงเปรียบเทียบระบบในงานวิจัยนี้.....	51
4.2 สีของอนุภาคทองคำนาโน ที่สังเคราะห์ได้.....	53
4.3 การดูดกลืนแสงของอนุภาคทองคำนาโน ที่สังเคราะห์ได้.....	53
4.4 เส้นไฟเบอร์ออปติกที่ตรึงอนุภาคทองคำนาโน และไม่ได้ตรึงอนุภาคทองคำนาโน.....	55
4.5 ภาพจาก Optical microscope แสดงพื้นผิว core ของfiber optic.....	55
4.6 ค่าการทะลุผ่าน (Transmittance: T) ของแสงเข้าสู่ตัวรับสัญญาณ.....	56
4.7 การเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของสัญญาณต่อการเปลี่ยนแปลงดัชนีหักเห และ ค่า sensitivity ของเซนเซอร์.....	59
4.8 ค่า Transmittance ของแสงที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีหักเห ตามขนาดของ GNPs.....	61
4.9 ค่าการเปลี่ยนแปลงค่า Transmittance ของแสง เมื่อเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีหักเห และค่า sensitivity ตามขนาดของ GNPs.....	62
4.10 การ Repeatation ของ GNPs/FOB ที่เงื่อนไข GNPs ที่ถูกสังเคราะห์.....	65
4.11 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของหมู่โลหิต ABO.....	66
4.12 ค่า %Transmittance ในขั้นตอนการวัด Antigen ของหมู่โลหิต A O และ B.....	67
4.13 การเปลี่ยนแปลงค่า %Transmittance เปรียบเทียบ PBS ก่อนและหลังตรวจวัดในแต่ละหมู่โลหิต.....	70
4.14 การตอบสนองของเซนเซอร์ต่อสารละลายตัวอย่างโลหิตต่างๆ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ของ GNPs/FOB และ Ab-A/GNPs/FOB.....	71
4.15 การเปลี่ยนแปลงค่าความเข้มของแสงที่ทะลุผ่านเมื่อตรวจวัดในหมู่เลือด ABO.....	73
4.16 การ Repeatation ของ Ab-A/GNPs/FOB ที่ความเข้มข้นโลหิตหมู่ A ต่างๆ.....	74

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

ความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีที่เพิ่มขึ้นตลอดทศวรรษที่ผ่านมา ดำเนินไปอย่างก้าวกระโดด ทั้งทางด้านการสื่อสาร ด้านการคมนาคม ด้านสาธารณสุขโรค และที่สำคัญอย่างยิ่งคือ ด้านการแพทย์ ในช่วงเวลาห้าถึงสิบปีที่ผ่านมา ผู้คนจำนวนมากเริ่มตระหนักถึงสุขภาพร่างกายของตนเองเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อผลกระทบที่สืบเนื่องมาจากช่วงเวลาของการพัฒนาทางอุตสาหกรรมอย่างรวดเร็ว เริ่มส่งผล ทั้งการเกิดโรคชนิดใหม่ และการวิวัฒนาการของเชื้อไวรัสหรือแบคทีเรีย อาทิ ในปี พ.ศ. 2552-2553 การวิวัฒนาการของเชื้อไวรัสไข้หวัดที่ พัฒนาตัวเองในชื่อ H5N1 หรือไข้หวัดนกสายพันธุ์ใหม่ ที่ส่งผลกระทบอย่างกว้างขวางทั่วโลก มากกว่าห้าสิบประเทศทั่วโลกมีผู้ติดเชื้อ มากกว่าหมื่นคนเสียชีวิต [1] ดังนั้น การพัฒนาทางด้านการแพทย์ ทั้งด้วยยาเพื่อรักษาโรคหรือแม้กระทั่งการตรวจสอบหรือระบุโอกาสความเป็นไปได้ของโรคต่างๆ จึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง นอกเหนือจากวิธีการตรวจวัดโรคหรือสุขภาพในรูปแบบที่ใช้เวลาค่อนข้างนาน เช่น การตรวจวัดเซลล์มะเร็งจากการเก็บตัวอย่างเนื้อมาตรวจสอบทางชีวเคมีในห้องปฏิบัติการ [2] หรือการตรวจสอบปริมาณสารในร่างกาย เช่น กลูโคส ยูเรีย โลหะหนัก หรือ คลอเรสเตอรอล จากการเจาะตัวอย่างเลือด [3] ในระบบกระบวนการตรวจสอบเหล่านี้จะต้องเผชิญกับอุปสรรคหลายๆ อย่าง เช่น ในการเจาะเลือดเด็กทารก ซึ่งเป็นอันตรายอย่างมากต่อตัวเด็กเอง แต่ในการวินิจฉัยบางอย่างจำเป็นต้องอาศัยการเจาะเลือด หรือในการตรวจวินิจฉัยโรคบางอย่าง เช่น มะเร็งปากมดลูก ต้องทำในห้องปฏิบัติการเท่านั้น และยิ่งไปกว่านั้นค่าใช้จ่ายในการวินิจฉัยที่ค่อนข้างสูง หลายคนไม่มีโอกาสเข้าถึงการเทคโนโลยีเหล่านี้ ทำให้โอกาสที่จะมีคนเสียชีวิตจากโรคเหล่านี้เพิ่มขึ้นในหลายๆ ประเทศ ด้วยเหตุนี้นักวิจัยจึงได้สร้างสรรค์และพัฒนาอุปกรณ์และเทคโนโลยีในการตรวจวัดสารชีวโมเลกุลต่างๆ ให้มีขนาดที่เล็กลง สามารถพกพาได้สะดวก และมีราคาที่ถูกลง เพื่อเพิ่มโอกาสในการเข้าถึงเทคโนโลยีให้มากขึ้นในหลายพื้นที่ นับว่าเป็นการตอบโจทยของปัญหาการตรวจวินิจฉัยในปัจจุบัน โดยอาศัยหลักการพื้นฐานของไบโอเซนเซอร์ (Biosensors) ร่วมกับการการพัฒนาอุปกรณ์หรือเทคโนโลยีในการตรวจวัดให้มีประสิทธิภาพที่ดีขึ้น

ไบโอเซนเซอร์ (Biosensors) เป็นนวัตกรรมที่รวมองค์ความรู้ในหลายๆ แขนง เพื่อพัฒนาการตรวจวัดทางชีวภาพ เช่น การตรวจจับสัญญาณคู่แอนติบอดี-แอนติเจน การตรวจสอบสารเคมีหรือโมเลกุลผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาชีวเคมี และตรวจจับการเข้าคู่กันของดีเอ็นเอคู่ผสม เป็นต้น เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยพัฒนาสมบัติของไบโอเซนเซอร์ให้มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น ไม่ว่าจะเป็นในแง่ของความเร็วในการตอบสนองต่อสัญญาณ (sensitivity) ความจำเพาะต่อการตรวจวัด (Selectivity) ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (Limit of Detection :LOD) การตอบสนองเชิงเส้นต่อความเข้มข้นต่างๆ (Calibration curve) ระยะเวลาในการคงที่ของสัญญาณ (Respond time) และ อายุการใช้งาน (Life time) [4] ไบโอเซนเซอร์นั้นเป็นการประยุกต์หลักการของเซนเซอร์ปกติ แต่จะเกี่ยวข้องกับการใช้สารชีวโมเลกุลมาเป็นตัวตรวจจับสัญญาณ (Bioreceptor) จากสารชีวโมเลกุลเป้าหมาย (Analyte) เพื่อให้ได้สัญญาณออกมา ซึ่งมีตัวแปลงสัญญาณ (Transducer) เป็นตัวบ่งชี้ค่าการเปลี่ยนแปลงทั้งเชิงไฟฟ้า แสง หรือสี [5] ซึ่งการตรวจจับเชิงไฟฟ้าเป็นวิธีหนึ่งที่ได้รับคามนิยมอย่างมาก ดังหลายๆ งานวิจัยเช่น Ion-Sensitive Field Effect Transistor : ISFET ในการตรวจวัดปริมาณยูเรีย [6] และ เครื่องมือตรวจวัดระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือด (Enzyme based-biosensors detecting blood glucose) [7] นอกจากนี้การตรวจวัดด้วยระบบทางแสง (Optical Biosensors) ก็เป็นที่นิยมอย่างมากเช่นกัน ถึงแม้ว่าระบบการตรวจวัดทางแสงนั้นต้องการความเสถียรที่ค่อนข้างสูงมาก แต่อย่างไรก็ตามระบบการตรวจวัดแบบนี้ แสดงออกถึงค่าการตอบสนองต่อสัญญาณ (sensitivity) ที่สูงมาก และมีการตอบสนองต่อความเข้มข้นที่น้อยมาก (Limit of Detection : LOD) ถึงในระดับนาโนโมลาร์ (nM) [8] ในระบบเซนเซอร์ชีวภาพทางแสงนั้น มีวิธีการตรวจวัดที่แตกต่างกัน เช่น โพรตีนหรือดีเอ็นเอไมโครอาร์เรย์ (protein/DNA micro array) เป็นระบบที่เตรียมการได้ง่ายและมีความนิยมเนื่องจากสามารถตรวจวัดสารได้หลายชนิดในครั้งเดียว ซึ่งวิธีอ่านค่าสัญญาณนั้นอาศัยการแปลงแสงฟลูออเรสเซนซ์เมื่อเกิดปฏิกิริยาการจับกันระหว่างคู่สารที่จำเพาะเจาะจง [9] หรือในระบบเอนไซม์จะทำการตรวจวัดสารเป้าหมาย โดยดูจากสารเคมีหรือผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาของเอนไซม์กับโมเลกุลเป้าหมาย หรืออาศัยการติดฉลากโมเลกุลด้วยเอนไซม์ที่ทำให้เกิดการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ [10, 11] ขณะเดียวกันไฟเบอร์ออปติกไบโอเซนเซอร์ (Fiber-Optic Biosensors: FOB) ก็ถูกพัฒนาขึ้นและใช้กันอย่างแพร่หลาย ด้วยค่าใช้จ่ายของเส้นใยไฟเบอร์ออปติกที่ต่ำ และความสะดวกในการจัดการและการตรวจวัด นอกจากนี้ความสามารถในการวัดสัญญาณแบบเรียลไทม์ (real time) ซึ่งระบบไมโครอาร์เรย์ไม่สามารถแสดงออกมาได้ รวมถึงความสามารถในการตอบสนองที่มีค่า sensitivity และ LOD ที่โดดเด่นมากขึ้น ทำให้ FOB เป็นงานวิจัยที่ได้รับความนิยมและถูกพัฒนาอย่างต่อเนื่อง โดยเฉพาะการตรวจจับโปรตีน หรือคู่แอนติเจน-แอนติบอดี รวมถึงก๊าซหรือโลหะหนัก โดยการใช้โมเลกุลฟลูออเรสเซนซ์หรือโมเลกุลที่มีสมบัติการดูดกลืนแสงในช่วงที่จำเพาะในการตรวจวัด [11-13]

การพัฒนาของ FOB เป็นไปอย่างต่อเนื่องและก้าวกระโดด หลายงานวิจัยได้มีการนำวัสดุนาโนหลายๆ โครงสร้างเข้ามาประยุกต์ใช้ในการพัฒนาประสิทธิภาพหรือสมบัติของ FOB เช่น การนำเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน (ZnO NPs) และฟิล์มบางซิงค์ออกไซด์ (ZnO thin film) มาตรวจวัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) [14] การใช้อนุภาคเงินนาโน (Silver Nanoparticles : AgNPs) ช่วยในการตรวจวัดสารเมลามีน [15] และการนำอนุภาคทองคำนาโน (Gold nanoparticles : GNPs) หรือ แท่งทองคำนาโน (Gold nanorods : GNRs) มาใช้ในการตรวจวัดทั้งทางการแพทย์และสาธารณสุข [16-19] ซึ่ง GNPs นั้นเป็นอนุภาคนาโนที่ได้รับความนิยมในหลายๆ งานวิจัย ในการนำมาใช้เพื่อกระตุ้นสัญญาณหรือพัฒนาคุณภาพของ FOB โดยทำหน้าที่เป็นตัวขยายสัญญาณ เนื่องจากขั้นตอนการเตรียมที่ง่ายและมีสมบัติทางแสงขึ้นกับขนาดของอนุภาค ทำให้สมบัติการดูดกลืนแสงเปลี่ยนไปเมื่อขนาดเปลี่ยนไป และยิ่งไปกว่านั้น การอาศัยปรากฏการณ์โลคอลไลต์เซอเฟสพลาสมอนเรโซแนนซ์ (Localized Surface Plasmon Resonance: LSPR) ซึ่งเป็นปรากฏการณ์ชนิดหนึ่งของเซอเฟสพลาสมอนเรโซแนนซ์ (Surface Plasmon Resonance: SPR) จะเป็นตัวกระตุ้นให้เกิดสัญญาณที่เปลี่ยนแปลงมากยิ่งขึ้น ซึ่งเป็นสมบัติหนึ่งของสารประกอบนาโนโลหะออกไซด์ การเพิ่มวัสดุนาโนเหล่านี้ไปขยายสัญญาณในการตรวจวัดทำให้ประสิทธิภาพของ FOB เพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด คือ ค่า LOD มีค่าต่ำลง และ ค่า sensitivity ที่เพิ่มมากขึ้นตามที่งานวิจัยจำนวนมากได้ศึกษาไว้ [16, 19-29] รวมถึงการใช้ GNRs ที่ให้ผลที่ดีขึ้นใกล้เคียงกัน [17, 18, 27, 30-32]

การประยุกต์นำนาโนเทคโนโลยีมาสร้างสรรค์ และพัฒนาสมบัติและประสิทธิภาพของไฟเบอร์ออปติกไบโอเซนเซอร์ (FOB) ได้มีการศึกษาและพัฒนาอย่างต่อเนื่อง โดยมีจุดประสงค์หลักเพื่อแก้ไขหรือตอบโจทยปัญหาของระบบเทคโนโลยีการตรวจวัดแบบเดิมและลดต้นทุนการผลิต เพื่อเพิ่มโอกาสการเข้าถึงเทคโนโลยีทางการแพทย์ของบุคคลในหลากหลายพื้นที่ ดังนั้นจึงต้องมีการพัฒนาเพิ่มประสิทธิภาพของเซนเซอร์ให้ดีขึ้น โดยจะมุ่งเน้นในด้านการเพิ่ม sensitivity การลดค่า LOD และการลด Respond time รวมถึงการเพิ่มอายุการใช้งานด้วยกระบวนการต่างๆ อาทิ การปรับปรุงเชิงพื้นผิวระดับนาโนของไฟเบอร์ออปติกไบโอเซนเซอร์ [8, 33] การเพิ่มหรือปรับปรุงโครงสร้างหรือโมเลกุลทางเคมีในระบบของการวัด การเพิ่มปริมาณผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากอันตรกิริยาเชิงชีววิทยาจากเอนไซม์ และการปรับปรุงพื้นผิวของโครงสร้างนาโนที่นำมาขยายสัญญาณ [8, 34] ดังนั้น การศึกษาระบบการทำงานและอภิปรายจากภาคทฤษฎีสู่ระบบปฏิบัติจริงของ FOB จึงเป็นสิ่งจำเป็นในการพัฒนาและปรับปรุงคุณภาพของ FOB ให้สูงขึ้น โดยเฉพาะการปรับปรุงพื้นฐาน นั่นคือ การปรับปรุงเปลี่ยนแปลงเชิงพื้นผิวของไฟเบอร์ออปติกและอนุภาคทองคำนาโนรวมถึงการศึกษาในระบบการตรวจวัดจริง เพื่อหาเงื่อนไขหรือสภาวะที่เหมาะสมที่สุด ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญเบื้องต้นในการพัฒนาสร้างเป็นอุปกรณ์ตรวจวัดทางชีวภาพที่มีประสิทธิภาพสูงในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 จุดประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาและทดสอบการทำงานของไฟเบอร์ออปติก ในเชิงไบโอเซนเซอร์ (Fiber-optic biosensors : FOB)
2. เพื่อศึกษาและพัฒนาเพิ่มประสิทธิภาพของไฟเบอร์ออปติกในเชิงการปรับปรุงพื้นผิวของไฟเบอร์ออปติก ร่วมกับอนุภาคทองคำนาโน
3. เพื่อศึกษาการตรวจจับสัญญาณของสารชีวโมเลกุล เช่น คูโปรตีนแอนติเจน-แอนติบอดี โดยใช้ไฟเบอร์ออปติกไบโอเซนเซอร์ที่สร้างขึ้น
4. เพื่อจัดทำชุดอุปกรณ์ไฟเบอร์ออปติกไบโอเซนเซอร์อย่างง่าย สำหรับใช้ในงานตรวจวัดสารชีวโมเลกุลหรือสารเคมี

1.3 สมมติฐานของการวิจัย

เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงเชิงพื้นผิวของของไฟเบอร์ออปติก จะส่งผลถึงค่าการเปลี่ยนแปลงของการทะลุผ่านของแสง (Transmittance : T) ขณะเดียวกันการที่มีอนุภาคทองคำนาโนเคลือบที่แกนกลางของไฟเบอร์จะทำหน้าที่เป็นตัวขยายสัญญาณซึ่งจะส่งผลให้เห็นค่าการเปลี่ยนแปลงของการทะลุผ่านของแสงได้ชัดเจนขึ้น และเมื่อนำไปใช้เป็นไบโอเซนเซอร์ตรวจวัดโปรตีนตัวอย่างหรือคู่แอนติเจน-แอนติบอดี จะทำให้ประสิทธิภาพของไบโอเซนเซอร์ในเชิงของค่าความไวในการตรวจวัด (sensitivity) ดียิ่งขึ้น และทำให้ได้เซนเซอร์ที่สามารถทำขึ้นเองและมีขนาดเล็ก สามารถพัฒนาให้เป็นอุปกรณ์พกพา นำไปใช้ทดสอบภาคสนามต่อไปได้

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

- (1) ศึกษาและทดสอบการทำงาน การติดตั้งและตั้งค่าบริการอุปกรณ์การตรวจวัดทางแสง
- (2) สังเคราะห์อนุภาคทองคำนาโน
- (3) ทำการเคลือบอนุภาคทองคำนาโนบนพื้นผิวของไฟเบอร์ออปติก โดยอาศัยวิธีการทางเคมีเพื่อปรับเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิว
- (4) ตรวจวัดและวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงเชิงแสงเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงที่พื้นผิวของไฟเบอร์ออปติก เพื่อหาค่าการตอบสนอง (Sensitivity) ของอุปกรณ์
- (5) ตรวจวัดสารโปรตีนตัวอย่าง หรือ คู่แอนติเจน-แอนติบอดีโดยใช้ไฟเบอร์ออปติกที่สร้างขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.5 ขั้นตอนของการวิจัย

แผนที่ 1 (สิงหาคม-ธันวาคม พ.ศ.2558)

กิจกรรม/ขั้นตอนการดำเนินงาน	ระยะเวลาในการทำงาน				
	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.
1) การติดตั้งและตั้งค่าระบบการตรวจวัดแสง					
2) การสังเคราะห์อนุภาคทองนาโน					
3) การเคลือบอนุภาคทองนาโนบนผิวไฟเบอร์ออปติก					

แผนที่ 2 (มกราคม-เมษายน พ.ศ.2559)

กิจกรรม/ขั้นตอนการดำเนินงาน	ระยะเวลาในการทำงาน			
	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.	เม.ย.
1) ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงเชิงแสงจากการเปลี่ยนแปลงพื้นผิวของไฟเบอร์ออปติก				
2) เคลือบชั้นโปรตีนและทดสอบคู่แอนติเจน แอนติบอดี				

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

หลักการและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

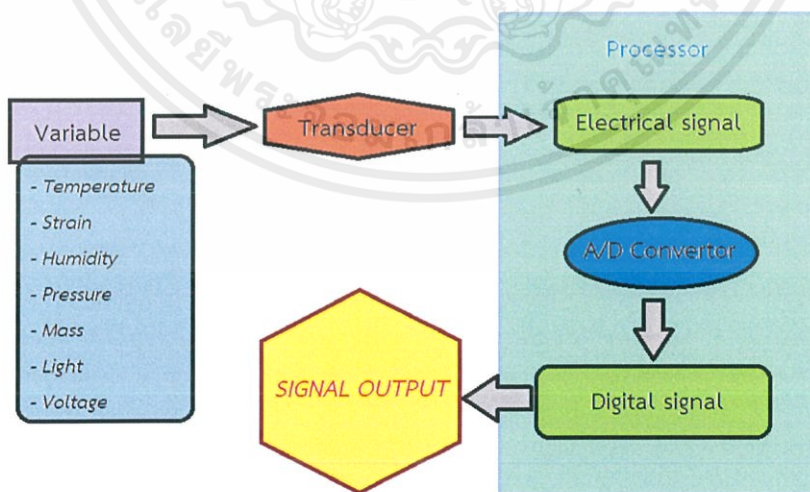
ในบทนี้ได้ศึกษารวมรวบหลักการและองค์ความรู้ที่เกี่ยวข้องกับไฟเบอร์ออปติก ในการประยุกต์ใช้ในเชิงเทคโนโลยีการนำอนุภาคทองคำนาโนเข้ามาช่วยในการทำงานของไบโอเซนเซอร์นี้ ซึ่งมีหลักการและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องดังนี้

2.1 หลักการที่เกี่ยวข้อง

2.1.1 ไบโอเซนเซอร์ (Biosensors)

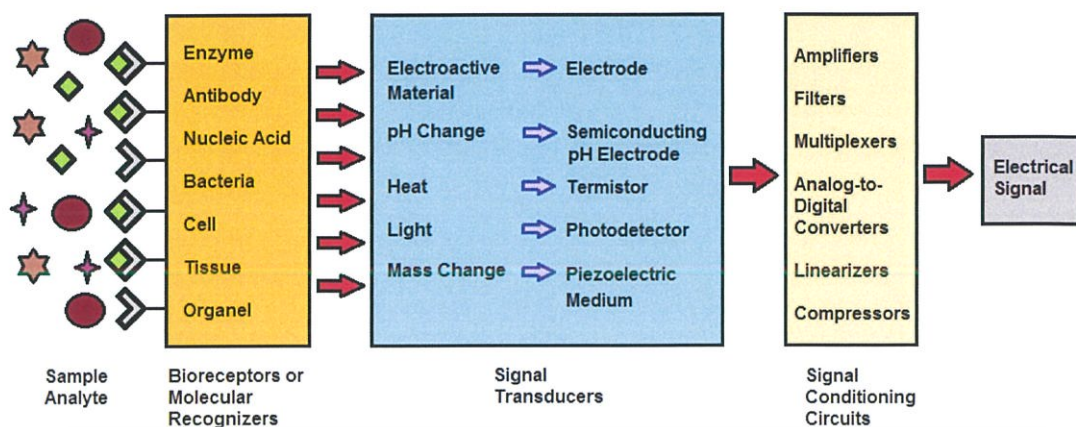
2.1.1.1 ความหมายและความรู้พื้นฐานของ biosensors

ไบโอเซนเซอร์ เป็นอุปกรณ์ที่ผสมผสานศาสตร์ความรู้ทั้งทางไฟฟ้า ทางแสง ทางเคมี ทางกลศาสตร์ และทางชีววิทยา ซึ่งมีความสามารถในการตรวจจับแบบจำเพาะของสารชีวโมเลกุล [5] โดยการอาศัยความจำเพาะเจาะจงทางชีววิทยาที่มีตัวตรวจจับเป็นสารชีวโมเลกุลที่เข้ากันได้ (Bioreceptor) ซึ่งเป็นการแสดงจุดเด่นในแง่ของค่าความจำเพาะเจาะจง (Selectivity) ที่เพิ่มมากขึ้น ซึ่งการใช้ตัวรับที่เป็นสารชีวโมเลกุลนั้นเป็นข้อแตกต่างกับระบบการทำงานของเซนเซอร์ปกติ ที่จะไม่ได้อาศัยในการใช้สารชีวโมเลกุลเป็นตัวตรวจจับ (รูปที่ 2.1) อย่างไรก็ตามระบบการทำงานหรือองค์ประกอบอื่นๆ รวมถึงสมบัติทั่วไปโดยรวมของเซนเซอร์ปกติและไบโอเซนเซอร์จะมีลักษณะที่เหมือนกัน (ภาพที่ 2.2)



ภาพที่ 2.1 องค์ประกอบโดยรวมของระบบเซนเซอร์แบบปกติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Pier Andrea Serra (February 2010) *Biosensors* เข้าถึงได้จาก

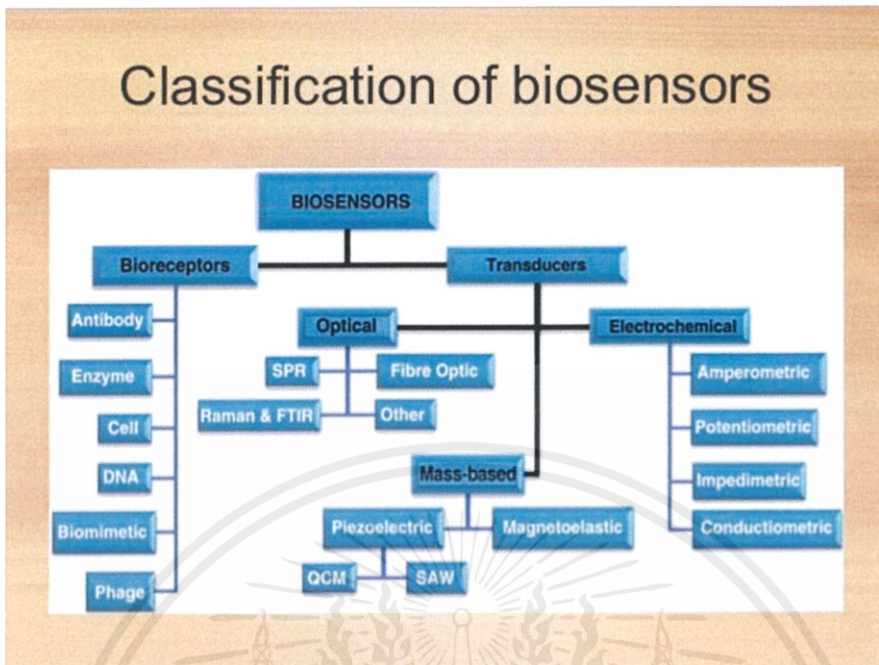
<http://www.intechopen.com/source/html/37959/media/image9.png>

ภาพที่ 2.2 องค์ประกอบโดยรวมของระบบไบโอเซนเซอร์

2.1.1.2 ส่วนประกอบพื้นฐานของ biosensors

ตามที่ได้กล่าวในข้างต้นไบโอเซนเซอร์ประกอบด้วยส่วนประกอบที่สำคัญอย่างหนึ่ง นั่นคือ ตัวตรวจจับที่เป็นสารชีวโมเลกุล (Bioreceptors) เพื่อจับสารชีวโมเลกุลเป้าหมาย (Analyte) และมีอุปกรณ์การเปลี่ยนแปลงสัญญาณทางชีวภาพเป็นสัญญาณต่างๆ ที่สามารถตรวจวัดได้ หรือเรียกว่า ทรานส์ดิวเซอร์ (Transducers) ซึ่งเป็นอุปกรณ์ที่สำคัญและมีอยู่หลายแบบขึ้นกับสัญญาณที่เกิดขึ้นบนผิวของเซนเซอร์ เช่น Transducers ที่เปลี่ยนแปลงเชิงแสง เชิงไฟฟ้าเคมี เชิงไฟฟ้า และเชิงมวล เป็นต้น และมีอุปกรณ์ในการวิเคราะห์สัญญาณและแสดงผลสัญญาณออกมา (Signal processor) ซึ่งโดยมากจะแสดงออกมาในรูปของสัญญาณทางไฟฟ้า (ภาพที่2.2) [4, 5]

2.1.1.3 ชนิดของ biosensors



N.A.G. Sandaruwan (July 2013) *Bacteriophage based bioluminescence Biosensor for pathogen detection in food*

เข้าถึงได้จาก <http://www.slideshare.net/BaranaRangana/biosensor-final>

รูปที่ 2.3 การจำแนกชนิดของไบโอเซนเซอร์

จากส่วนประกอบของไบโอเซนเซอร์ดังที่ได้กล่าวมาข้างต้น ทำให้สามารถแยกชนิดของไบโอเซนเซอร์ออกได้เป็นไปตาม 2 เกณฑ์ (ภาพที่ 2.3) ดังนี้

(1) จำแนกตามชนิดของตัวตรวจจับชีวโมเลกุล (Bioreceptors)

สามารถจำแนกออกได้เป็น

1. ตัวรับที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทางชีววิทยา เช่น เอนไซม์ เซลล์ หรือ เนื้อเยื่อต่างๆ
2. ตัวรับที่อาศัยปฏิกิริยาทางชีววิทยา เช่น คู่แอนติเจน-แอนติบอดี หรือเซนเซอร์ในระบบภูมิคุ้มกัน

(2) จำแนกตามชนิดของตัวแปลงสัญญาณ (Transducers)

เป็นเกณฑ์หลักที่นิยมใช้ในการจำแนกชนิดของไบโอเซนเซอร์ซึ่งสามารถจำแนกออกได้เป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. ตัวแปลงสัญญาณชนิดไฟฟ้าเคมี (Electrochemical)

เช่น การเปลี่ยนแปลงค่ากระแสไฟฟ้า ค่าความต่างศักย์ไฟฟ้า ค่าความนำไฟฟ้าหรือ ค่าความต้านทานไฟฟ้า รวมถึงพวกออสเฟต และทรานซิสเตอร์แบบใช้สนามไฟฟ้า

2. ตัวแปลงสัญญาณเชิงกล (Mass based)

เช่น Quartz crystal microbalance (QCM) การเปลี่ยนแปลงเชิงกลอันเนื่องมาจากการทำปฏิกิริยาระหว่างโมเลกุล หรือเรียกว่า Cantilever และการเปลี่ยนแปลงสัญญาณคลื่นการสั่นแบบยืดหยุ่นจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจากการเพิ่มขึ้นของความเค้นหรือความเครียด (Acoustic emission) เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงมวลบนพื้นผิวตรวจวัด

3. ตัวแปลงสัญญาณเชิงแสง (Optical)

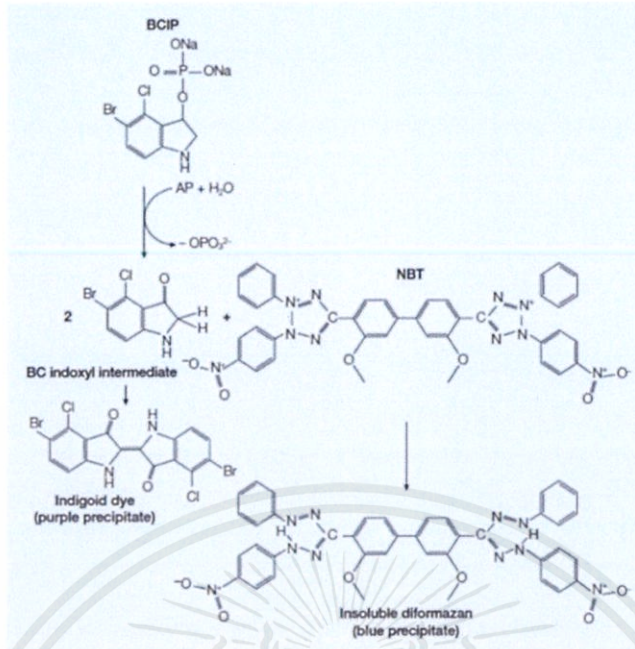
เช่น การเปลี่ยนแปลงเชิงสี การเปลี่ยนแปลงแสงฟลูออเรสเซนซ์ การเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีหักเหของแสง และ ไฟเบอร์ออปติก

2.1.1.4 ไบโอบเซนเซอร์เชิงแสง (Optical biosensors) [8]

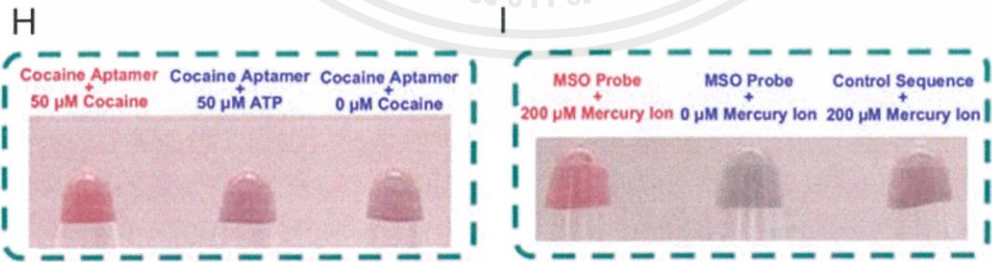
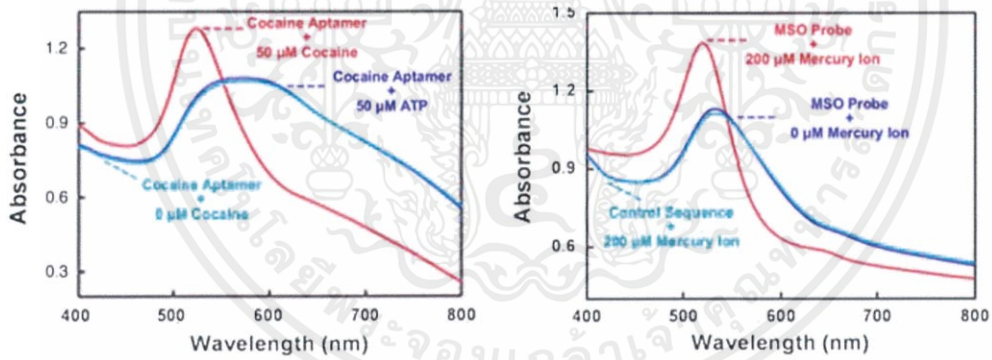
เป็นไบโอบเซนเซอร์ชนิดที่ใช้ตัวทรานสดิวเซอร์ที่แปลงสัญญาณทางชีวภาพเป็นสัญญาณทางแสง ดังต่อไปนี้

(1) การเปลี่ยนแปลงเชิงสีของวัสดุ (Colorimetric)

การเปลี่ยนแปลงการดูดกลืนแสงของวัสดุที่เปลี่ยนแปลงไปเนื่องจากโครงสร้างทางเคมีที่เปลี่ยนไปเช่น โมเลกุล BCIP ที่เปลี่ยนสีเมื่อทำปฏิกิริยากับสาร NBT (ภาพที่ 2.4) กล่าวคือ การเปลี่ยนแปลงความยาวคลื่นที่วัสดุสามารถดูดกลืนได้เมื่อมีการกระทำกับตัวโมเลกุลชีววิทยาเป้าหมาย (Analyte) ดังนั้นเมื่อการดูดกลืนแสงของวัสดุเปลี่ยนแปลงไป จะส่งผลให้สีของวัสดุนั้นเปลี่ยนแปลงไปเช่นกัน ดังตัวอย่างในภาพที่ 2.5 เป็นการตรวจจวัดสารโคเคน เมื่อมีการตรวจจับสารโคเคน สารจะเปลี่ยนเป็นสีแดง และการตรวจจับโลหะหนักปรอท ที่จะเกิดการเปลี่ยนเป็นสีม่วงแดงเมื่อมีสารปรอท



ภาพที่ 2.4 ตัวอย่างโมเลกุลในการตรวจวัดความเปลี่ยนแปลงสี

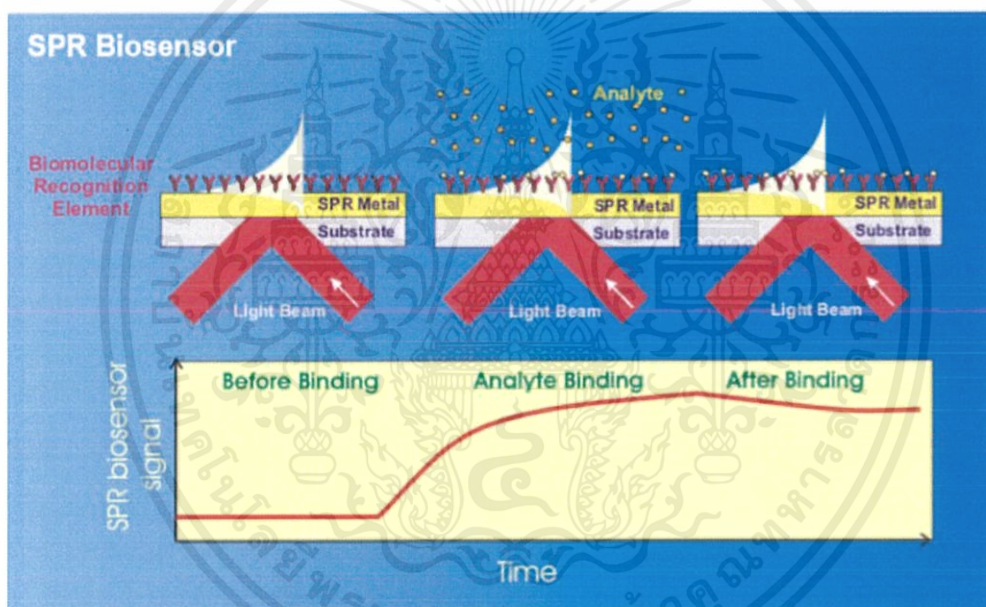


ภาพที่ 2.5 ตัวอย่างงานวิจัยที่ใช้ระบบ Colorimetric method การตรวจวัดสารโคเคน(ซ้าย) การตรวจวัดปรอท (ขวา) [35]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(2) การเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีหักเห (Refractive index) ของสารโดยอาศัยปรากฏการณ์ surface plasmon resonance: SPR หรือ localized surface plasmon resonance: LSPR

ไบโอเซนเซอร์ชนิดนี้ไม่อาศัยโมเลกุลติดฉลาก (Label free) แต่สามารถทำการวัดสัญญาณโดยอาศัยปรากฏการณ์ LSPR ซึ่งเป็นสมบัติและลักษณะสำคัญของอนุภาคโลหะนาโน [18, 28] ดังนั้นไบโอเซนเซอร์ชนิดนี้ต้องมีส่วนประกอบของอนุภาคโลหะนาโนเข้ามาเกี่ยวข้อง โดยส่วนใหญ่โลหะนาโนที่นิยมใช้คือ อนุภาคทองคำนาโน ซึ่งปรากฏการณ์ LSPR (หัวข้อ 2.1.2) นั้นจะตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าดัชนีหักเหในระบบ ดังนั้นจะส่งผลถึงค่าความยาวคลื่นในการเกิดปรากฏการณ์ SPR หรือ LSPR การเปลี่ยนแปลงเชิงอวง เช่น ค่าการทะลุผ่าน (T) ค่าการดูดกลืนแสง เป็นต้น ซึ่งระบบโดยทั่วไปจะมีหลักการดังภาพที่ 2.6 ที่จะเกิดการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณ SPR เมื่อมีการจับกันของคู่แอนติเจน-แอนติบอดี



ภาพที่ 2.6 การเกิดปรากฏการณ์ SPR ของไบโอเซนเซอร์ [36]

(3) การเปลี่ยนแปลงแบบเปล่งแสง (Photometric)

ไบโอเซนเซอร์ชนิดนี้ อาศัยการเกิดการเรืองแสงของสารเนื่องจากการจ่ายโปรตอนออกมาจากการกระบวนการเปล่งแสง (Luminescence) หรือการเรืองแสง (Fluorescence) ของสาร (ภาพที่ 2.7) ซึ่งจะถูกตรวจจับด้วยเซนเซอร์แสงจำพวกโฟโตมัลติพลายเออร์ (photomultiplier) และโฟโตไดโอด (photodiode) ซึ่งสามารถแบ่งการเปล่งแสงออกมาได้สองรูปแบบหลัก (ภาพที่ 2.10ข,ค) คือ

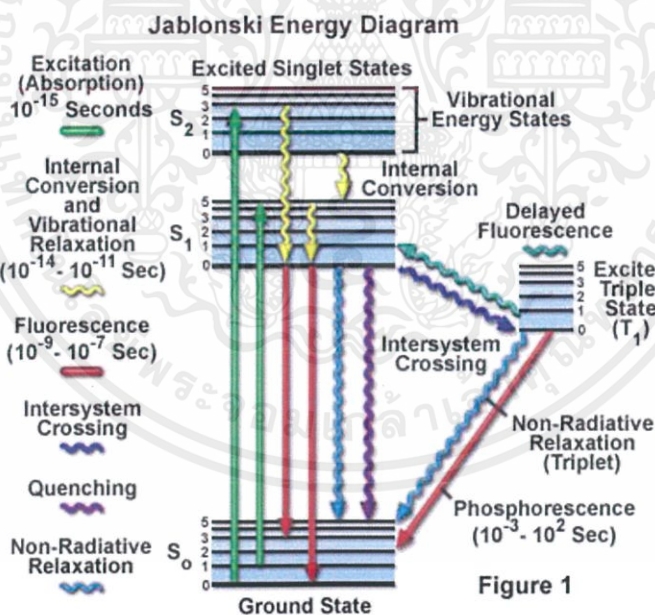
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. การเปล่งด้วยสารทางเคมี (Chemiluminescence)

เป็นกระบวนการนี้จะถูกกระตุ้นด้วยเอนไซม์ ให้เกิดผลิตภัณฑ์ ทางชีวเคมีออกมา และขณะเดียวกันจะมีการคายพลังงานในรูปของแสงออกมา ซึ่งจะเป็นตัวที่ถูกตรวจวัดแสดงข้อมูล ซึ่งแสงที่ออกมาอาจจะถูกตรวจจับด้วยฟิล์มเอ็กเรย์ หรือ อุปกรณ์ซีซีดีก็ได้ (Charge-coupled device imager: CCD) (ภาพที่ 2.10ข)

2. การตรวจวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence detection)

(ภาพที่ 2.10ค) เป็นการยึดติดตัวปล่อยแสงฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorophore) เข้ากับแอนติบอดีซึ่งอาจจะเป็นแอนติบอดีตัวแรก (primary antibody) หรือเป็นแอนติบอดีตัวที่สอง (secondary antibody) ที่ทำหน้าที่เป็นตัวขยายสัญญาณ ซึ่งนิยมใช้ระบบนี้อย่างมากในการตรวจวัดทางภูมิคุ้มกัน ซึ่งจะมีการใช้แสงไปกระตุ้นโมเลกุลฟลูออเรสเซนซ์ และแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ออกมาจะถูกตรวจจับด้วยกล้องเพื่อสร้างเป็นภาพออกมา (ภาพที่ 2.8) การตรวจวัดเชิงแสงฟลูออเรสเซนซ์นี้ส่วนใหญ่จะทำการตรวจวัดในสองโมเดลหลัก คือ การตรวจวัดในรูปสารละลาย และการตรวจวัดในรูปไมโครอาร์เรย์ (ภาพที่ 2.9)

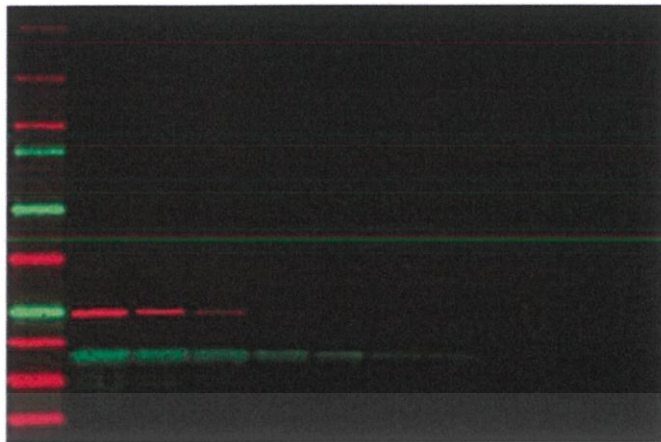


Ian D. Johnson and Michael W. Davidson (May 2011) *Jablonski Energy Diagram* เข้าถึงได้จาก

<http://www.olympusmicro.com/primer/java/jablonski/jabintro/>

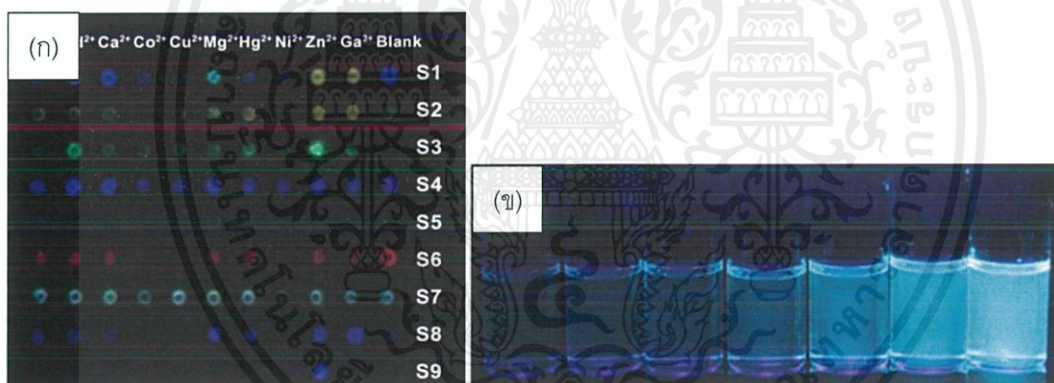
ภาพที่ 2.7 โมเดลการเกิดแสงของโมเลกุลในรูปแบบของแถบชั้นพลังงาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Biorad (March 2014) *detection-methods* เข้าถึงได้จาก <http://www.bio-rad.com/en-th/applications-technologies/detection-methods>

ภาพที่ 2.8 ตัวอย่างการเปล่งแสงฟลูออเรสเซนซ์ของฟลูออเรสเซนต์ไบโอเซนเซอร์



Anzenbacher Research Group (June 2012) *Rational Design of a Minimal Size Sensor Array for Metal Cation Detection: 10 Birds with One Stone* เข้าถึงได้จาก

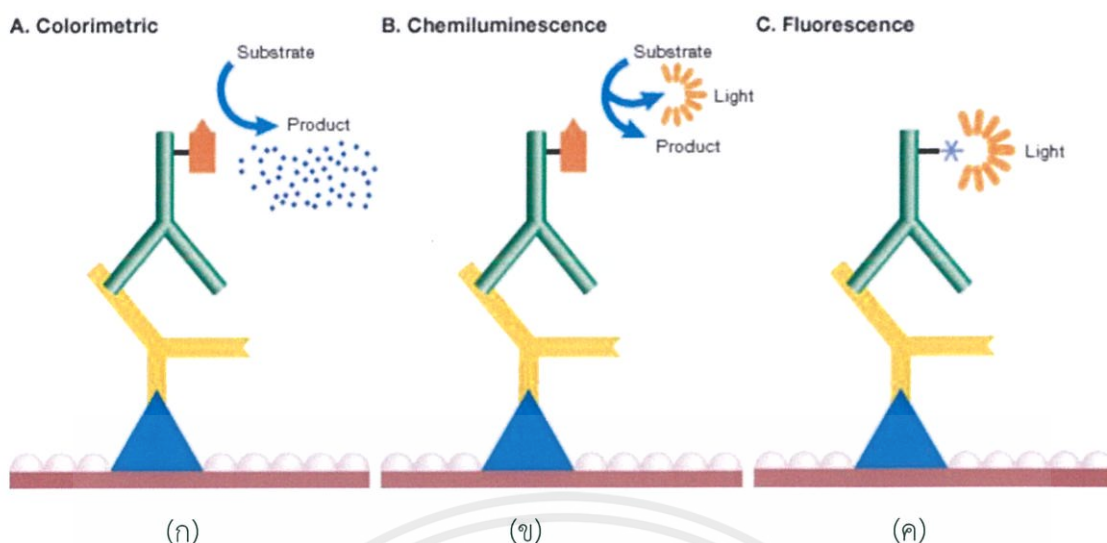
<http://www2.bgsu.edu/departments/chem/faculty/pavel/heavymetal.html>

Ben Zhong Tang (September 2010) *New Simple CO2 Sensor* เข้าถึงได้จาก

<https://pubs.acs.org/cen/news/88/i40/8840news.html>

ภาพที่ 2.9 (ก) ไมโครอาร์เรย์ฟลูออเรสเซนต์ไบโอเซนเซอร์ (ข) สารละลายฟลูออเรสเซนต์ไบโอเซนเซอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Biorad (March 2014) *detection-methods* เข้าถึงได้จาก <http://www.bio-rad.com/en-th/applications-technologies/detection-methods>

ภาพที่ 2.10 แสดงตัวอย่างรูปแบบโครงสร้างของการตรวจวัดทั้งทางแสงสามแบบโดยใช้เอนไซม์ Hereditary coproporphyria (HCP) (ก) Colorimetric (ข) Chemiluminescence (ค) Fluorescence

2.1.1.5 ลักษณะและสมบัติของไบโอเซนเซอร์

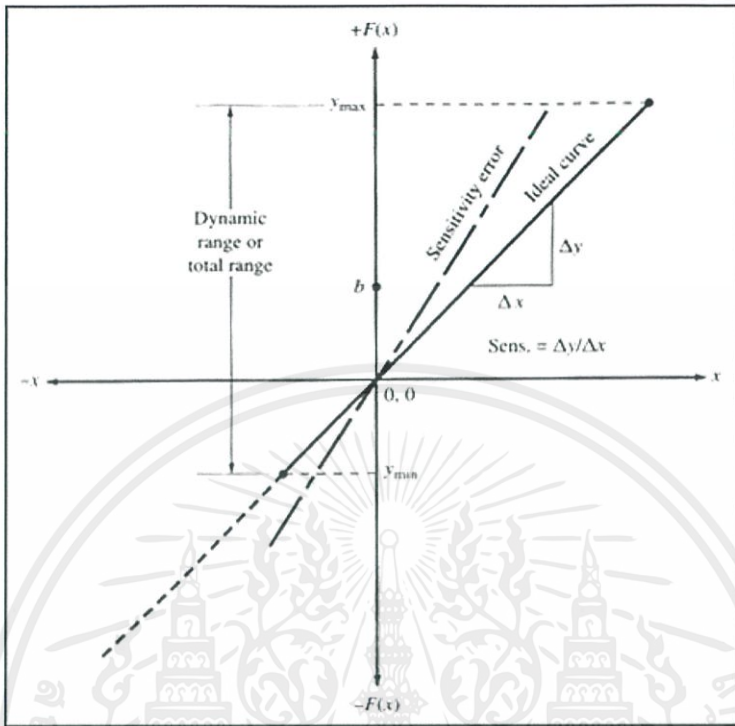
การตรวจวัดประสิทธิภาพการทำงานของเซนเซอร์และไบโอเซนเซอร์ สามารถตรวจวัดได้จากหัวข้อต่างๆ ดังที่จะได้กล่าวต่อไปนี้ [37], [4, 5] โดยในงานวิจัยที่เกี่ยวกับการใช้เซนเซอร์หรือไบโอเซนเซอร์ในการตรวจวัด จะมีการแสดงข้อมูลออกมา เพื่อซึ่งใช้เป็นเกณฑ์ชี้วัดประสิทธิภาพของเซนเซอร์ได้ ซึ่งในงานวิจัยอาจจะเน้นพัฒนาเพียง 3 ถึง 4 หัวข้อ หรือมากกว่านั้นก็เป็นได้

(1) ความไวในการตอบสนอง (sensitivity)

ความไวในการตอบสนองเป็นตัวแปรที่สำคัญในการบอกความแตกต่างของปริมาณสารตัวอย่างที่ต้องการตรวจวัด ซึ่งแสดงถึงการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณเมื่อได้มีการจับกันของสารเป้าหมาย (Analyte) และตัวตรวจจับสารเป้าหมาย (Bioreceptor) ซึ่งนิยามเป็นอัตราส่วนระหว่างการเปลี่ยนแปลงค่าสัญญาณขาออก (output: ΔO) ต่อค่าสัญญาณการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณขาเข้า (input: ΔI) ดังสมการที่ 1 หรือก็คือค่าความชันของกราฟที่ได้จากการพล็อตระหว่าง ความเข้มข้นกับค่าสัญญาณที่ได้ (Calibration curve) (ภาพที่ 2.11)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

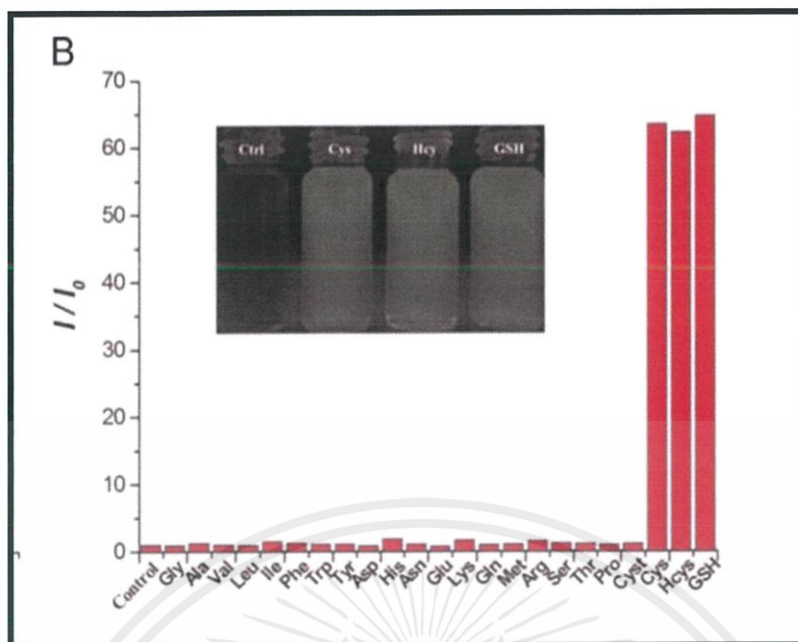
$$\text{Sensitivity} = \frac{\Delta O}{\Delta I} = \frac{\Delta y}{\Delta x} = m = \text{slope (ความชัน)} \dots \dots \dots (1)$$



ภาพที่ 2.11 การคำนวณหาค่าความไวในการตอบสนองของเซนเซอร์จากกราฟ [37]

(2) ความจำเพาะในการตอบสนองต่อสาร (Selectivity)

ความสามารถของเซนเซอร์หรือไบโอเซนเซอร์ในการตอบสนองเฉพาะต่อสารใดสารหนึ่งเท่านั้น โดยในอุดมคตินั้นเซนเซอร์ควรจะมีการตอบสนองเพียงแค่สารเดียวเท่านั้น ซึ่งในความเป็นจริงแล้วเซนเซอร์จะเกิดการตอบสนองต่อสารอื่นบ้างเพียงเล็กน้อยถึงน้อยมาก ซึ่งจะมีการตอบสนองต่อสารที่เราต้องการตรวจวัดสูงมาก โดยการพัฒนาสมบัติด้านนี้ เป็นการพัฒนาเพื่อเพิ่มการตอบสนองต่อสารที่ต้องการตรวจวัด ในขณะที่ยวกันลดสัญญาณของสารที่ไม่ต้องการให้มีค่าเข้าใกล้ศูนย์มากที่สุด โดยปกติแล้วระบบทางชีวภาพ จะมีค่าความจำเพาะต่อสารที่สูง เนื่องจากสมบัติความจำเพาะของคู่สารชีวโมเลกุลเอง (ภาพที่ 2.12)

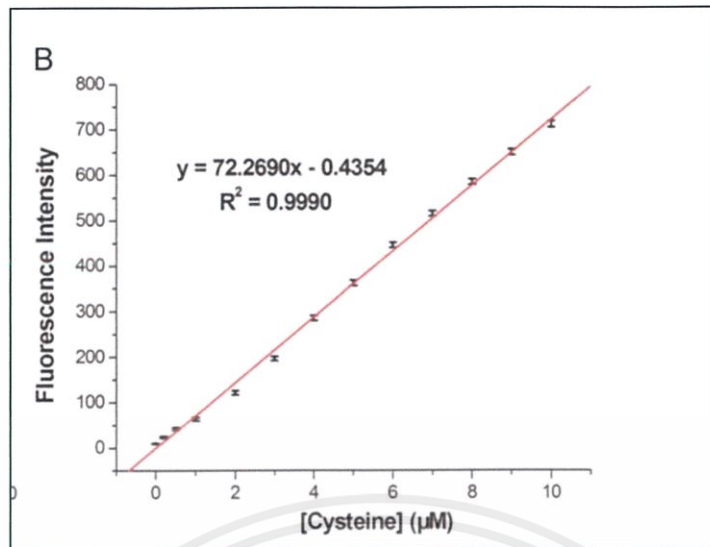


ภาพที่ 2.12 ตัวอย่างงานวิจัยในการทดสอบค่าความจำเพาะต่อสารที่มีหมู่ซัลเฟอร์ [29]

โดยงานวิจัยในรูปแบบไบโอเซนเซอร์เชิงแสงที่ใช้ในการตรวจสอบหมู่ซัลเฟอร์ (Thiols : -HS) ในสารชีวโมเลกุล โดยนำไปตรวจสอบกับกรดอะมิโนที่พบในร่างกายของมนุษย์ทั้งหมด 20 ชนิด จะพบว่าเซนเซอร์ชนิดนี้สามารถตอบสนองได้ดีต่อกรดอะมิโนที่มีหมู่ซัลเฟอร์เท่านั้น คือ Cysteine Homocysteine และ Glutathione

(3) การตอบสนองเชิงเส้นต่อความเข้มข้นต่างๆ (Calibration curve)

เป็นการเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ ระหว่างความเข้มข้นและค่าสัญญาณที่ได้ ซึ่งในระบบเซนเซอร์หรือไบโอเซนเซอร์ที่ดี ควรมีการกระจายตัวของข้อมูลที่มีความสัมพันธ์ของค่าทั้งสองแกนเป็นฟังก์ชันเส้นตรง ($y=mx+c$) โดยกรณีที่มีข้อมูลกระจายตัวได้ดีที่สุดนั่นคือ $R^2=1$ แสดงถึงว่าเซนเซอร์นั้นมีความเสถียรในการวัดในทุกๆ ค่าความเข้มข้น ทำให้ผลการทดลองที่ได้น่าเชื่อถือมาก ซึ่งกราฟนี้จะเป็นกราฟมาตรฐานของไบโอเซนเซอร์ โดยค่า LOD และค่า sensitivity รวมถึงสารที่ไม่ทราบความเข้มข้น (Unknown Sample) สามารถหาความเข้มข้นได้จากกราฟนี้ โดยการแทนค่าในสมการเส้นตรงที่ได้จากการกระจายตัวของข้อมูล (ภาพที่ 2.13)

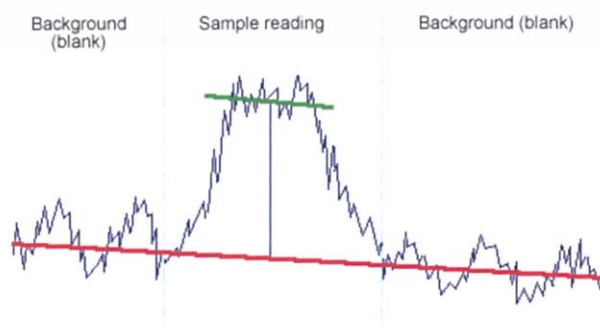


ภาพที่ 2.13 Calibration curve ของตัวอย่างไบโอเซนเซอร์ตรวจจับ Cysteine [29]

ฟลูออเรสเซนซ์ไบโอเซนเซอร์ที่ใช้ในการตรวจสอบหมู่ซัลเฟอร์ (Thiols : -HS) ในสารชีวโมเลกุลพบว่า การกระจายตัวของข้อมูลนั้นเป็นไปตามสมการเส้นกำกับค่อนข้างสูง และสามารถยืนยันได้ด้วยค่า $R^2 = 0.9990$ ซึ่งถึงเป็นค่าการกระจายตัวของข้อมูลที่ดีมาก (เข้าใกล้ 1)

(4) ความสามารถในการตอบสนองต่อสารในปริมาณน้อย (Limit of Detection: LOD)[38]

ความเข้มข้นหรือปริมาณของสารที่ต้องการตรวจวัด (Analyte) ที่น้อยที่สุดที่เซนเซอร์สามารถตรวจวัดหรือตรวจจับสัญญาณได้ [39] เมื่อมีข้อมูลดิบที่สามารถวัดได้จากเครื่องมือวัดหรือเซนเซอร์ ข้อมูลที่ได้จะเป็นช้อททางไฟฟ้า โดยเป็นสัญญาณที่ต่อเนื่องและมีโครงสร้างสัญญาณประกอบด้วยสัญญาณหลักและสัญญาณรบกวนหรือแบคกราว (ภาพที่ 2.14)



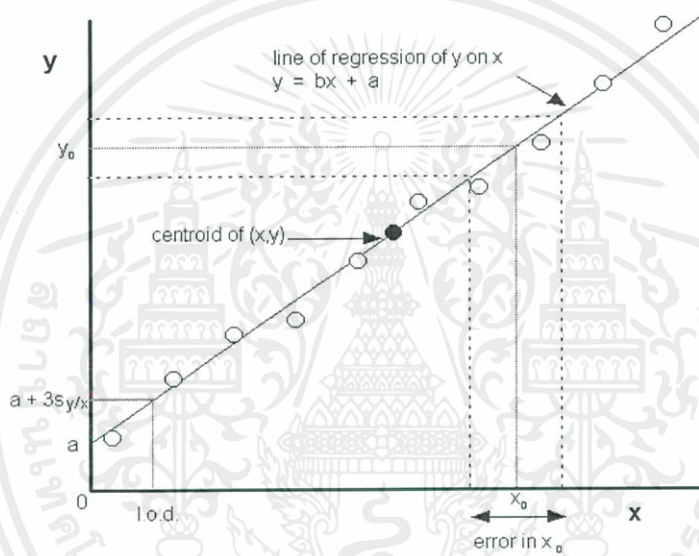
ภาพที่ 2.14 ลักษณะสัญญาณแบบต่อเนื่องที่ได้รับจากเครื่องมือวัดหรือเซนเซอร์[38]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากลักษณะสัญญาณที่ได้ออกมา จะดูจากค่าสัญญาณที่ต่ำที่สุดที่สามารถแยกออกมาจากสัญญาณรบกวนได้ โดยจะต้องมีค่าสัญญาณเป็นสามเท่าของค่าสัญญาณรบกวน (มากกว่า 3 เท่าของค่า Standard Deviation (SD) หรือ noise signal)

ในการหาค่า LOD ในระบบเซนเซอร์จะหาจาก Calibration curve ซึ่งโดยรวมแล้ว LOD คำนวณจากจุดตัดแกน (a,b) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S) ของสมการเส้นทำนายของข้อมูล (ภาพที่ 2.15) ซึ่งมีความสัมพันธ์ตามสมการที่ 2

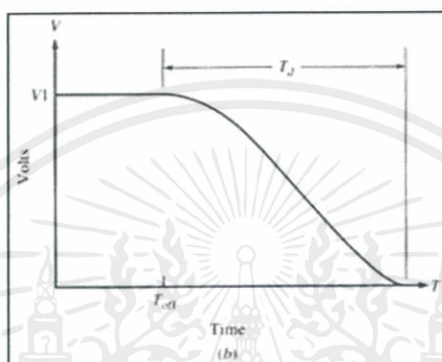
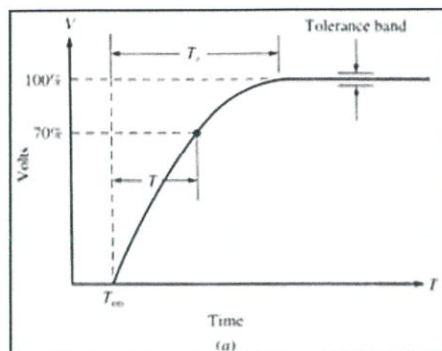
$$y_{LOD} = 3S_{y/x} + a \dots\dots\dots (2)$$



ภาพที่ 2.15 ตัวอย่างสมการเส้นทำนายและการคำนวณหาค่า LOD[38]

(5) ระยะเวลาในการคงที่ของสัญญาณ (Response time)

เป็นระยะเวลาที่เซนเซอร์ใช้ในการคงตัวของสัญญาณที่วัดได้ กล่าวคือ ระยะเวลาที่สัญญาณจะใช้ในการคงที่ นั้นแสดงว่าหลังระยะเวลานี้ เวลาจะไม่มีผลต่อการทำงานของเซนเซอร์หรือไบโอเซนเซอร์ (ภาพที่ 2.16) ซึ่งจะแสดง Response time ทั้งสองชนิด คือการเพิ่มขึ้นของสัญญาณหรือการลดลงของสัญญาณ



ภาพที่ 2.16 บน Respond time แบบเพิ่มสัญญาณ ล่าง Respond time แบบลดสัญญาณ[40]

(6) อายุการใช้งาน (Life time)

ระยะเวลาในการใช้งานตัวไบโอเซนเซอร์ ซึ่งโดยปกติแล้วสารชีวโมเลกุลจะสามารถเกิดการออกซิไดซ์ได้ง่าย และเสียหายได้ง่ายจากค่าความเป็นกรด-เบสที่เปลี่ยนแปลง และความชื้นที่เพิ่มขึ้น ซึ่งล้วนแต่เป็นปัจจัยที่ทำให้อายุการใช้งานของเซนเซอร์น้อยลง และเมื่อถูกการใช้งานต่อไปเรื่อยๆ ประสิทธิภาพของเซนเซอร์ก็จะลดลงตามระยะเวลา

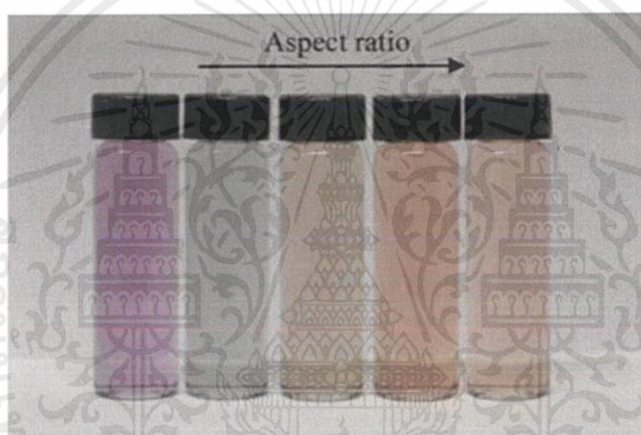
2.1.2 อนุภาคทองคำโน Gold nanoparticles (GNPs) [17, 32]

2.1.2.1 ความรู้พื้นฐานของ GNPs

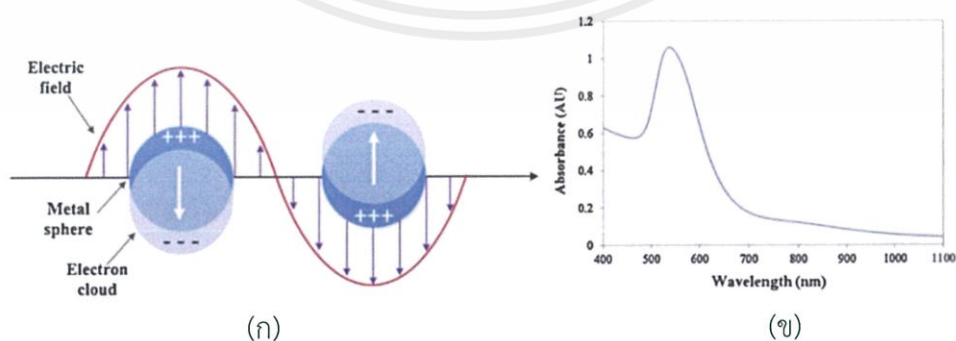
อนุภาคทองคำโนเป็นวัสดุนาโนชนิดหนึ่ง โดยถูกจัดเป็นการจำกัดแบบสามมิติ หรือวัสดุนาโนชนิดศูนย์มิติ ซึ่งก็คือ อิเล็กตรอนในอนุภาคจะไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ในแกนใดๆ เปรียบเสมือนมีการจำกัดทางควอนตัมเกิดขึ้น(Quantum confinement) ในทุกๆ แกน ซึ่งเป็นสิ่งที่ทำให้อนุภาคทองคำโนนั้นมีสมบัติที่แตกต่างไปจากอนุภาคทองคำขนาดใหญ่ คือ

(1) การเกิด Localized surface plasmon resonance (LSPR)

LSPR เป็นสมบัติทางแสงที่เกิดได้จาก อนุภาคโลหะนาโน (Metal nanoparticles: MNPs) ซึ่งเป็นสมบัติที่ทำให้เกิดความแตกต่างระหว่าง โลหะขนาดใหญ่ (Bulk metal) และ โลหะระดับนาโน ในทางทฤษฎี [J.Cao et al. “Sensors and Actuators”, B195 (2014), 332–351] เมื่อแสงกระทบกับผิวโลหะระดับนาโน สนามไฟฟ้าของแสงที่มากกระทบจะกระตุ้นให้อิเล็กตรอนบนผิวของ MNPs นั้นเกิดการสั่นพ้องกับค่าความถี่ของแสงที่มากกระทบ ซึ่งการกระตุ้นนี้ทำให้เกิดรอยต่อประจุระหว่างอิเล็กตรอนอิสระ และแกนของโลหะนาโน และแรงคูลอมบ์ของอิเล็กตรอนอิสระเหล่านี้จะทำให้เกิดแรงดึงดูดกลับในทิศทางตรงกันข้าม ซึ่งทำให้เกิดการสั่นและการดูดกลืนแสงในความถี่นั้นเข้ามาในอนุภาคนาโน นั่นคือ ความแตกต่างของขนาดของอนุภาค รูปร่างและ ชนิด จะทำให้เกิดการดูดกลืนแสงที่ต่างกันไป ซึ่งจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเชิงสีของอนุภาค (ภาพที่ 2.17)



ภาพที่ 2.17 สารละลายอนุภาคแท่งทองคำนาโนที่ค่า aspect ratio ต่างๆ แสดงถึงสีของสารละลายที่ต่างกัน

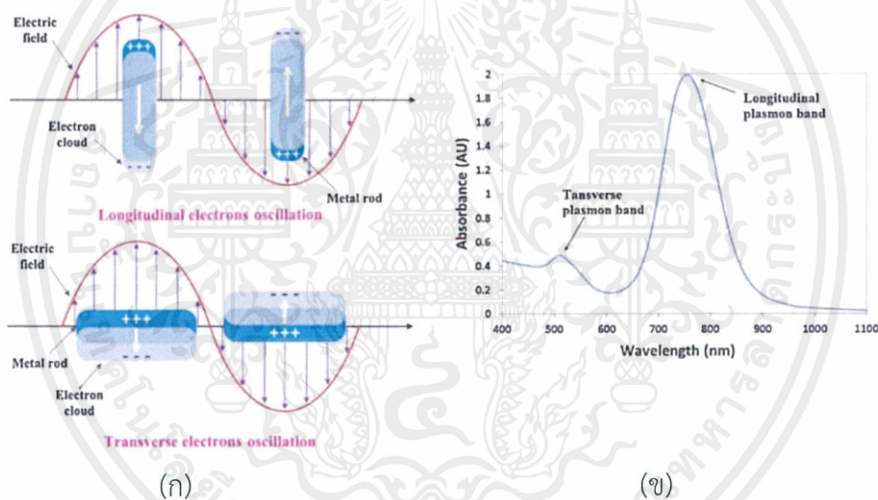


ภาพที่ 2.18 (ก) รูปแบบการเกิด LSPR ของ GNPs (ข) สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ GNPs

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากภาพที่ 2.18ก เป็นการกระตุ้นอนุภาคทรงกลมของ GNPs ให้เกิด LSPR ซึ่งจะทำให้เกิดการดูดกลืนแสงค่าเดียว (ภาพที่ 2.18ข) ในขณะที่เดียวกัน Gold nanorods (GNRs) จะเกิดการดูดกลืนแสงในสองช่วง (ภาพที่ 2.19) ซึ่งเกิดจากการสั่นในแนวตามขวาง (Transverse Plasmon band: TPB) และการสั่นในแนวตามยาว (Longitudinal Plasmon band: LPB) ซึ่ง TPB นั้นจะไม่มี การตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงของขนาดของ GNRs [41] และการเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีหักเหของ พื้นผิวโดยรอบ ในทางกลับกัน LPB จะกระตุ้นการดูดกลืนในช่วงแสงสีแดงมากขึ้น (Red shift) เมื่อมีการเพิ่มค่า aspect ratio ของ GNRs และมีการตอบสนองสูงมากต่อการเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีหักเห

ขนาด รูปร่าง และสมบัติทางไฟฟ้าของอนุภาคโลหะระดับนาโน มีผลอย่างมากต่อ ลักษณะของ LSPR ซึ่งจะส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าความหนาแน่นอิเล็กตรอน (Electron charge density) บนผิวของ MNPs ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของค่าการดูดกลืนแสงนี้ จะใช้เป็นตัวชี้วัด ของการตอบสนองของเซนเซอร์ LSPR



ภาพที่ 2.19 (ก) รูปแบบการเกิด LSPR ของ GNRs ทั้งสองแกน (ข) สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ GNRs

(2) Absorbance or Transmittance property

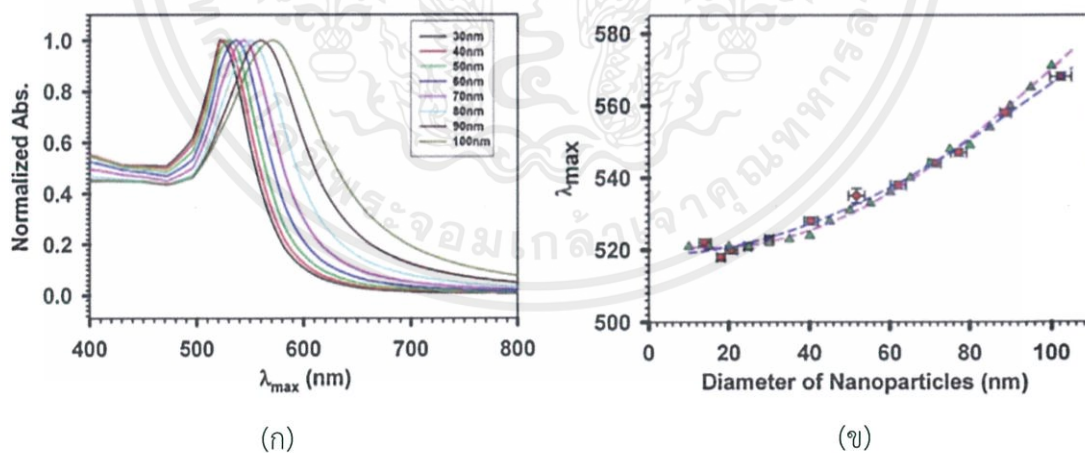
จากภาพที่ 2.18 และ 2.19 การกระตุ้นการเกิด LSPR จะส่งผลกระทบอย่างมากต่อการดูดกลืนแสง สำหรับโครงสร้างทรงกลม ของ MNPs การอธิบายการดูดกลืนแสงเนื่องมาจากการเกิด LSPR จะใช้ระบบวิธีการของ Mie ในการแก้สมการ Maxwell [42] จากทฤษฎีของ Mie ใช้ในการกระจายอนุภาคทรงกลมระดับนาโน ที่มีค่ารัศมีเป็น R โดยที่ค่า R มีค่าน้อยกว่าค่าความยาวคลื่น (λ) ของแสงมาก ($R/\lambda < 0.1$) ค่าการสูญเสียพลังงานของแสงเนื่องจากการถูกดูดกลืนและการกระเจิงแสง (Extinction cross section: C_{ext}) จะถูกกำหนดโดยสมการที่ 3 [18]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$C_{ext} = \frac{24\pi^2 R^3 N \epsilon_m^{3/2}}{\lambda} \frac{\epsilon_i}{(\epsilon_r + 2\epsilon_m)^2 + \epsilon_i^2} \dots \dots \dots (3)$$

เมื่อ ϵ_m คือค่าคงที่ไดอิเล็กทริกส์ (Dielectric constant) และ ϵ_r และ ϵ_i คือ ส่วนจริงและส่วนจินตภาพของฟังก์ชันไดอิเล็กทริกส์ของอนุภาคโลหะนาโน และ N คือ จำนวนของอนุภาคต่อหนึ่งหน่วยปริมาตร จากสมการที่ 3 ค่าของการดูดกลืนแสงจะเกิดเมื่อ $\epsilon_r = -2 \epsilon_m$ สำหรับอนุภาคทองและเงินนาโน มีค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วงของแสงที่ตามองเห็น (visible light) ซึ่งทำให้อนุภาคทั้งสองชนิดนิยมมาประยุกต์ใช้ในงานเซนเซอร์ เมื่อใช้แสงเลเซอร์ และ LEDs เป็นแสงในการกระตุ้น LSPR

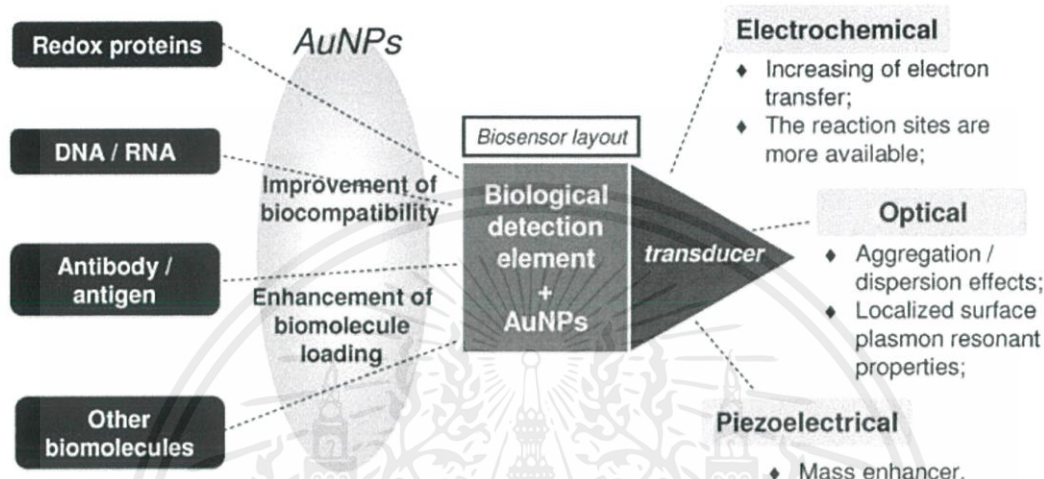
ความสัมพันธ์ของขนาดของGNPs กับ LSPR ซึ่งถูกคำนวณมาจากสมการที่ 3 ถูกแสดงในภาพที่ 2.20ก [41] ในรูปของสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ GNPs ที่ขนาดต่างๆ ซึ่งจะสังเกตเห็นชัดเจนถึงการเปลี่ยนแปลงสเปกตรัมการดูดกลืนไปย่านแสงสีแดง (Red shift) เมื่อขนาดของ GNPs เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 2.20ข) ซึ่งหลายๆ งานวิจัยยืนยันผลการทดลองที่เป็นไปตามกับผลทางทฤษฎีที่เกิดขึ้น



ภาพที่ 2.20 (ก) การเกิด Red shift ของสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ GNPs เมื่อขนาดของ GNPs ใหญ่ขึ้น (ข) แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงสูงที่สุดที่ขนาดต่างๆ ของ GNPs

2.1.2.2 การนำมาประยุกต์ใช้ในงาน Biosensors

GNPs (หรือ AuNPs) ในระบบไบโอเซนเซอร์นั้นจะทำหน้าที่ในการขยายสัญญาณทางชีววิทยาที่เกิดขึ้นระหว่าง Analyte กับ Bioreceptor โดยสามารถเพิ่มสัญญาณได้ในหลายๆ ระบบ ทั้งไฟฟ้าเคมี แสง และทางกายภาพ (ภาพที่ 2.21) [32]



ภาพที่ 2.21 หน้าที่ของอนุภาคทองคำนาโนในระบบของไบโอเซนเซอร์ในการขยายสัญญาณ

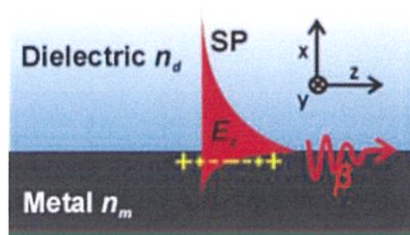
LSPR Biosensors [18]

การเปลี่ยนแปลงขนาดของอนุภาคนาโนนั้นส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงความยาวคลื่น LSPR ($\Delta\lambda$) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้ เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของค่าดัชนีหักเห ซึ่งอธิบายได้โดยสมการที่ 4

$$\Delta\lambda = m\Delta n \left[1 - \exp\left(\frac{-2d}{I_d}\right) \right] \dots \dots \dots (4)$$

เมื่อค่า Δn คือค่าการเปลี่ยนแปลงดัชนีหักเห หน่วยเป็น RIU m คือ ค่าการตอบสนองต่อค่าดัชนีหักเหของอนุภาคโลหะนาโนในขนาดปกติ ซึ่งค่า sensitivity จะหาได้จาก การเปลี่ยนแปลงสเปกตรัมการดูดกลืนต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าดัชนีหักเหในหน่วย nm/RIU และ ค่า d คือ ความหนาของชั้นที่ทำหน้าที่ดูดกลืนแสง (นาโนเมตร) และ I_d เป็นค่าสมบัติการลดทอนของสนามไฟฟ้า (Evanescent wave field) ในหน่วยของนาโนเมตร (ภาพที่ 2.22) ซึ่งสมการที่ 4 นั้นเป็นสมการพื้นฐานในการสร้าง LSPR wavelength-shift based sensors (LSPR sensors) โดยใช้การเปลี่ยนแปลงค่าความยาวคลื่นที่ดูดกลืนที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของค่าดัชนีหักเหบนพื้นผิวของอนุภาคนาโนเนื่องมาจากการเกิดปรากฏการณ์ LSPR

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



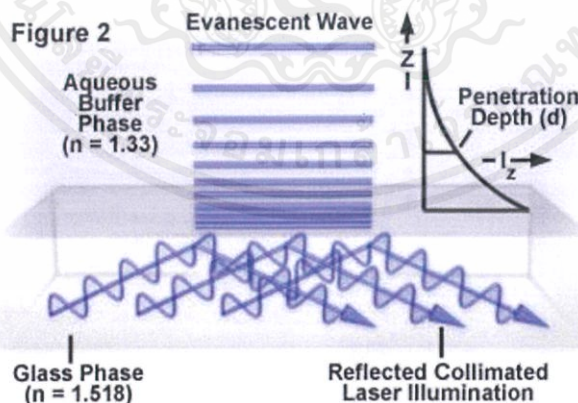
Propagation constant β can be analytically expressed as:

$$\beta = \frac{2\pi}{\lambda} \sqrt{\frac{n_m^2 n_d^2}{n_m^2 + n_d^2}}$$

ภาพที่ 2.22 การเกิด Surface plasmon resonance และ Evanescent field บนผิวของโลหะ [36]

Evanescent field เกิดขึ้นภายใต้การสะท้อนกลับหมดของแสง และเป็นคุณสมบัติที่มีฟังก์ชันลดลงแบบเอ็กซ์โพเนนเชียล (Exponential decay) จากพื้นผิวรอยต่อ (ภาพที่ 2.23) ซึ่งสนามไฟฟ้า Evanescent field ที่เกิดขึ้น จะไปกระตุ้นอนุภาคโลหะนาโนทำให้เกิดปรากฏการณ์ LSPR ขึ้น โดยปรากฏการณ์ LSPR จะมีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีหักเหบนผิวหน้าโลหะ และ Evanescent field จะมีระยะการทำงานหรือระยะยังผล (Penetration Depth) อยู่ในช่วง 100 ถึง 200 นาโนเมตร นับจากพื้นผิว ดังนั้นการนำไปประยุกต์ใช้ทางไบโอเซนเซอร์ จะถูกจำกัดการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างชีวโมเลกุลในระยะนี้ อย่างไรก็ตาม Evanescent field ถูกใช้เป็นตัวกระตุ้นขยายสัญญาณ รวมถึงเป็นตัวที่ใช้ในการสร้างสัญญาณออกมา และอาศัยการเปลี่ยนแปลงของสนามไฟฟ้าที่มีการตอบสนองต่อค่าดัชนีหักเหบนพื้นผิวโลหะนาโนที่เปลี่ยนไปในการตรวจวัดสัญญาณ ซึ่งจะนำหลักการนี้ไปใช้ในระบบของ GNPs/FOB

Evanescent Wave Exponential Intensity Decay



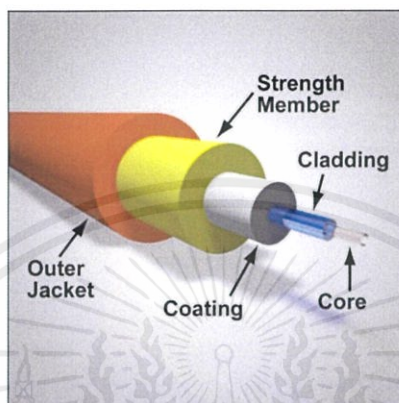
Daniel Axelrod and Michael W. Davidson (August 2012) *Introduction and Theoretical Aspects* เข้าถึงได้จาก <http://www.olympusmicro.com/primer/techniques/fluorescence/tirf/tirfintro.htm>

ภาพที่ 2.23 การเกิด Evanescent wave แบบทัวไปเมื่อแสงกระทบรอยต่อระหว่างพื้นผิวของแก้วและอากาศและเกิดการสะท้อนกลับหมด และ Penetration depth ของ Evanescent wave field

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3 ไฟเบอร์ออปติก (Fiber optics: FO) [41]

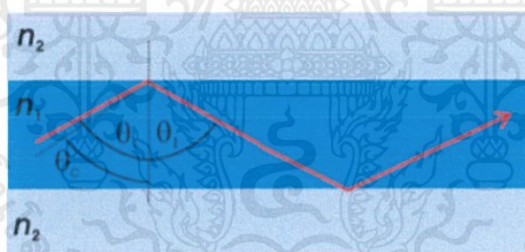
ไฟเบอร์ออปติก (FO) เป็นอุปกรณ์เชิงแสงชนิดหนึ่งที่เป็นที่นิยมอย่างมากในการนำมาใช้งานเป็นช่องทางเดินแสง (Waveguide) ด้วยอาศัยโครงสร้างของ FO (ภาพที่ 2.24) ที่มีค่าดัชนีหักเห (n) ในแต่ละชั้นที่ต่างกัน และหลักการของการสะท้อนกลับหมด (Total internal reflection: TIR) ภายใน สายไฟเบอร์ออปติก (ภาพที่ 2.25)



Thorlabs, General Fiber Information เข้าถึงได้จาก

https://www.thorlabs.com/newgrouppage9.cfm?objectgroup_id=2410

ภาพที่ 2.24 โครงสร้างของ FO



ภาพที่ 2.25 การเกิดการสะท้อนกลับหมดใน FO[36]

โดยทั่วไป FO จะประกอบด้วยโครงสร้างสามชั้น นั่นคือ ชั้นในสุดที่เป็นแกนกลาง (Core) ถัดมาเป็นแคดดิง(Cladding) และในชั้นต่อมา จะถูกหุ้มด้วยเปลือกพลาสติกโพลีเมอร์ (Jacket) โดยในชั้น Core และ Cladding ทำขึ้นจากแก้วหรือซิลิกา ซึ่ง Cladding อาจจะทำขึ้นจากโพลีเมอร์พิเศษได้ แต่ Core ส่วนมากจะถูกเจือด้วยเจอร์เมเนียม (Germanium: Ge) เพื่อสร้างให้ค่าดัชนีหักเหของ core สูงกว่าในชั้น cladding เล็กน้อย ซึ่งทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของแสงและเกิดการสะท้อนกลับหมด (TIR) ซึ่งจะเป็นไปตามกฎของสเนลล์ (สมการที่ 5) โดยการจะเกิด TIR ได้นั้นมุมตกกระทบจะต้องมีค่ามากกว่ามุมวิกฤต (critical angle: θ_c) หรือก็คือมุมที่ทำให้มุมหักเหมีค่า 90 องศา (สมการที่ 6) ซึ่งการจะเกิด TIR นั้นจะเกิดได้จากเมื่อแสงเดินทางจากตัวกลางที่มีค่าดัชนีหักเหสูงกว่า(n_1) ไปสู่ตัวกลางที่มีค่าดัชนีหักเห (n_2) ต่ำกว่า ($n_1 > n_2$) (ภาพที่ 2.25)

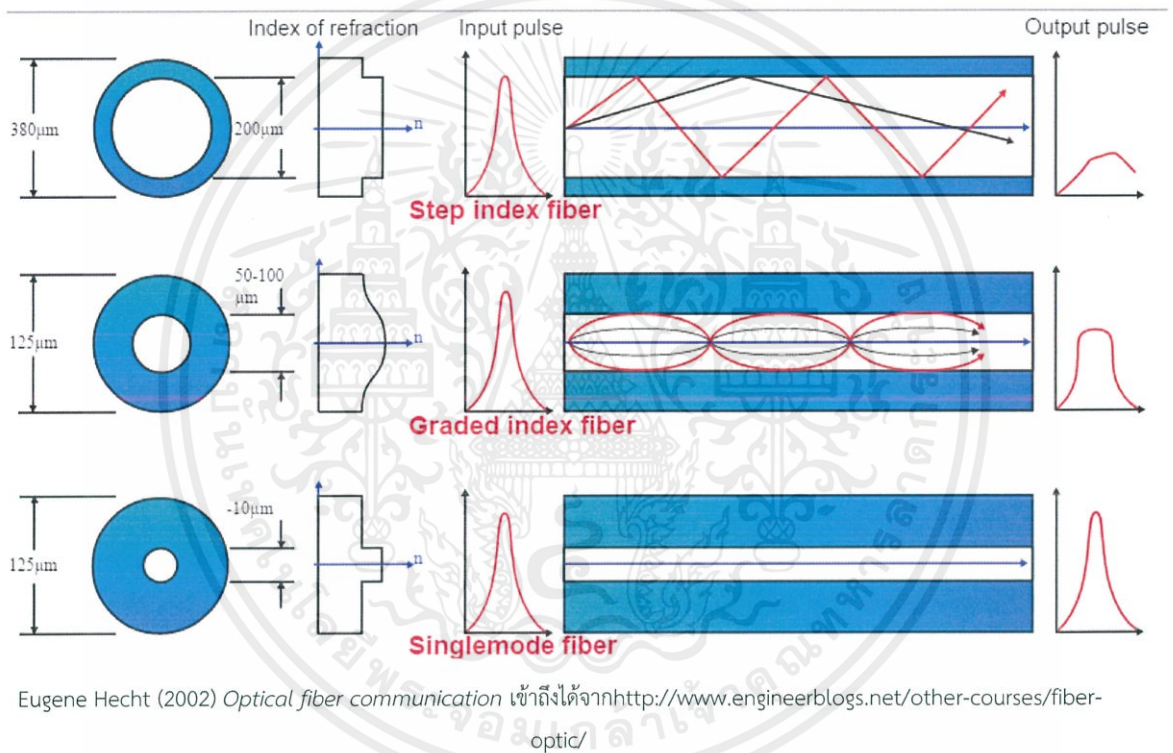
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$n_1 \sin \theta_1 = n_2 \sin \theta_2 \dots \dots \dots (5)$$

$$\theta_c = \arcsin\left(\frac{n_2}{n_1}\right) \dots \dots \dots (6)$$

2.1.3.1 ชนิดของ Fiber Optic

FO เป็นอุปกรณ์ที่ทำหน้าที่เป็นช่องทางเดินแสง ซึ่งขนาดของแกนกลางของ FO เป็นตัวชี้วัดทำให้เกิดช่องทางเดินแสงที่ต่างกัน 2 แบบ (ภาพที่ 2.26) ดังนี้



ภาพที่ 2.26 ชนิดของไฟเบอร์ออปติก

(1) Multiple waveguide

เป็นไฟเบอร์ที่มีขนาดแกนกลางขนาดใหญ่ (มากกว่า 10 ไมโครเมตร) ซึ่งสามารถวิเคราะห์ด้วยแสงเชิงเรขาคณิต (Geometrical optics) จากหลักการของการวิเคราะห์คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า ซึ่งสามารถแบ่งย่อยได้ออกเป็น 2 ชนิด คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(1.1) Step index fiber

แสงจะเคลื่อนที่ไปตลอดแนวของไฟเบอร์เส้นรังสีด้วย TIR แสงจะเข้าชนรอยต่อของ Core-cladding ด้วยมุมที่กว้างเมื่อเทียบกับเส้นปกติ และมุมๆ นั้น เป็นมุมที่กว้างกว่ามุมวิกฤต (Critical angle) ซึ่งจะทำให้เกิด TIR ซึ่งมุมนี้จะเป็นมุมที่ใช้ในการวิเคราะห์ มุมที่สามารถเกิด TIR ได้ของไฟเบอร์ หรือส่วนมากจะกล่าวถึงในชื่อ Numerical aperture (N.A.) ซึ่งที่ค่านี้สูง แสงจะสามารถเดินทางไปตลอดเส้นไฟเบอร์ ในมุมที่หลากหลายและใกล้เคียงกับแกนของไฟเบอร์

(1.2) Graded-index fiber

เป็นไฟเบอร์ที่มีค่าหักเหในแกนกลางที่ไม่เท่ากัน คือ ค่าดัชนีหักเหภายในจะลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึงชั้นแคดคิง ซึ่งเป็นผลให้ลำแสงนั้นค่อยๆ ถูกเบนเป็นเส้นโค้งเมื่อถึงแคดคิงแทนที่ลำแสงจะสะท้อนกลับทันที แต่กลับจะเกิดเป็นส่วนโค้งบริเวณรอยต่อของชั้น ซึ่งการออกแบบไฟเบอร์ชนิดนี้ด้วยในอุดมคติแล้ว สมการจะเป็นสมการพาราโบลา ที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ค่าดัชนีหักเหและระยะทางจากจุดกึ่งกลางแกนกลางออกไป

(2) Single waveguide

เป็นไฟเบอร์ที่มีค่าเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่าค่าความยาวคลื่นของแสงที่เดินทางอยู่ภายในประมาณ 10 เท่า ซึ่งไม่สามารถจะพิจารณาด้วยความรู้ของแสงเชิงเรขาคณิตได้ ทำให้จะต้องพิจารณาเป็นโครงสร้างของ คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า โดยใช้สมการของแมกเวลล์ ซึ่งในการวิเคราะห์นี้ต้องอาศัยหลักการเกิดจุดบอดเมื่อแสงอาพันธ์เดินทางภายใน Multi-mode fiber optic ในการกำหนดทางเดินของแสง ไฟเบอร์ออปติก จะต้องสามารถจำกัด การเกิดคลื่นตามขวางได้ ซึ่งจากการพิจารณาทางเดินของแสง พบว่า พลังงานของแสงจะไม่สามารถถูกจำกัดได้ในแกนกลางของไฟเบอร์ ซึ่งใน Single mode จะมีการสูญเสียพลังงานของแสงออกไปสู่ชั้นแคดคิงในรูปของ Evanescent wave

2.1.3.2 Fiber optics biosensors (FOB)

(1) หลักการของ FOB [41]

ไฟเบอร์ออปติกเป็นวัสดุที่ทำหน้าที่เป็นทางเดินของแสงซึ่งจะถูกออกแบบมาให้แสงมีการสูญเสียออกภายนอกให้น้อยที่สุด ซึ่งหากจะต้องนำมาใช้ในระบบเซนเซอร์แล้ว การเปลี่ยนแปลงของแสงเมื่อเกิดการกระทำกับสภาวะรอบๆ ไฟเบอร์ออปติกเป็นสิ่งที่ถูกใช้ประโยชน์ การเพิ่มปริมาณการเกิด Evanescent wave เป็นสิ่งหนึ่งที่ใช้ในระบบการตรวจวัด ซึ่งวิธีหนึ่งในการเพิ่มอันตรกิริยากับตัวกลางข้างนอก หรือเพิ่ม Evanescent wave คือการลดชั้น Cladding หรือขจัดออก ระยะทางที่สามารถเกิด Evanescent wave ได้บนพื้นผิวระหว่าง core-cladding เรียกว่า penetration depth (d_p) ซึ่งจะมีค่าสนาม Evanescent ลดลง ภายใต้ระยะนี้ ด้วยค่า $1/e$ หรือเขียนค่าสนามไฟฟ้าได้ดังสมการที่ 7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$E(x) = E_0 \exp\left(\frac{-x}{d_p}\right) \dots \dots \dots (7)$$

เมื่อ x คือระยะห่างจาก ผิวหน้าที่เป็นแกนกลางของไฟเบอร์ โดย x เริ่มต้นที่ 0 ที่รอยต่อของ core และ cladding และ E_0 เป็นค่าสนามไฟฟ้าที่เกิดขึ้นที่บริเวณรอยต่อพอดี และ d_p หรือ penetration depth มีสมการดังสมการที่ 8

$$d_p = \frac{\lambda}{2\pi \sqrt{n_{co}^2 \sin^2 \theta - n_{cl}^2}} \dots \dots \dots (8)$$

เมื่อ λ คือ ความยาวคลื่นของแสงที่ใช้ θ เป็นมุมตกกระทบที่รอยต่อระหว่าง Core และ Cladding และ ค่า n_{co} และ n_{cl} เป็นค่าดัชนีหักเหของ core และ cladding ตามลำดับ ใน ภาพที่ 2.27 แสดงภาพตัดขวางของไฟเบอร์ออปติก ซึ่งแสดงถึงการเกิด Evanescent wave และ penetration depth และมุมตกกระทบ รวมถึงการเคลื่อนที่ของแสงภายใน ซึ่งเมื่อ Cladding ของไฟเบอร์ได้ถูกขจัดออก ค่าทางแสงที่เกิดขึ้นจะเป็นการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงของ Evanescent wave ซึ่งเป็นผลเกี่ยวเนื่องโดยตรงเมื่อค่าดัชนีหักเหของตัวกลางเกิดเปลี่ยนแปลงขึ้น



ภาพที่ 2.27 แสดงรูปแบบการเดินทางของแสงผ่านไฟเบอร์ออปติกและการเกิด Evanescent wave รวมถึง penetration depth ที่เกิดขึ้น ด้วยมุมตกกระทบ θ

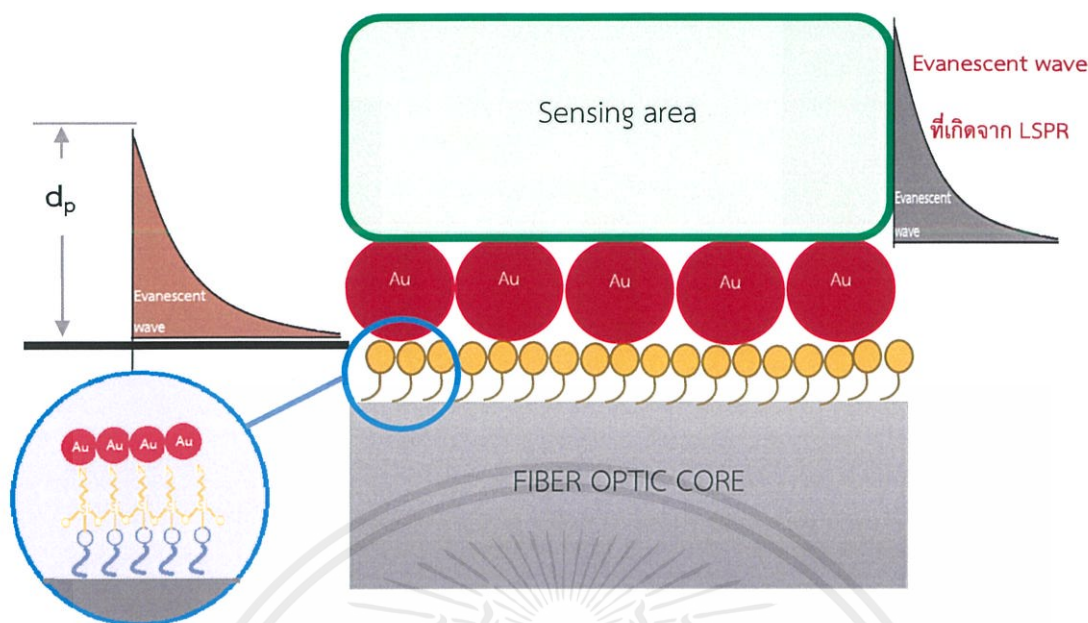
ในการตรวจวัดทาง FOB ซึ่งจะเป็นการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงเชิงแสงที่เกิดมาจากการเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีหักเหของตัวกลาง ซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของค่า Evanescent wave อย่างไรก็ตาม การเปลี่ยนแปลงทั้งหมดนี้ต้องอยู่ภายใต้ระยะ Penetration depth จึงจะสามารถตรวจจับสัญญาณได้ ดังนั้น ในหลายๆ งานวิจัย พบปัญหา ถึงการตอบสนองต่อเซนเซอร์ที่ค่อนข้างน้อยโดยเฉพาะการตอบสนองต่อสารชีวโมเลกุลที่มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย ทำให้จึงมีการนำเอาเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โนเทคโนโลยีมาช่วยในการเพิ่มประสิทธิภาพตรงนี้ ซึ่งขั้นตอนที่นิยมกันอย่างมากคือ การใช้ผลของ LSPR โดยส่วนใหญ่ จะเป็น GNPs ในการเป็นตัวกระตุ้น และขยายสัญญาณให้สามารถตรวจจับการเปลี่ยนแปลงได้มากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามการนำเอา GNPs เข้ามาช่วยทำให้ต้องมีการเพิ่มระเบียบกระบวนการเปลี่ยนแปลงพื้นผิว ในการตรึง GNPs ไว้บนพื้นผิว หรือ ใช้ในการตรวจจับสารอื่นๆ

การเกิดการขยายสัญญาณทางแสงในการวัดเกิดจากการที่เกิดการเสริมกัน (coupling) ของ Evanescent wave บนพื้นผิวของแกนกลางท่อไฟเบอร์ออปติคกับสนามไฟฟ้าบนพื้นผิวของ GNPs [49] ซึ่งค่าความหนาแน่นของสนามแม่เหล็กบนพื้นผิวชั้น GNPs (Norm of electric field) ขึ้นอยู่กับปริมาณประจุอิเล็กตรอนบนพื้นผิวของ GNPs ซึ่งการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนธรรมชาติไปกลับบนพื้นผิวจะทำให้เกิดคลื่นสนามไฟฟ้าบริเวณพื้นผิวของชั้น GNPs เกิดเป็นความถี่ค่าหนึ่งขึ้นที่เรียกว่า ความถี่ธรรมชาติ (Natural frequency) โดยถ้าหากความถี่ค่านี้ตรงกับค่าความถี่ของแสงที่มาตรงกระทบที่พื้นผิวจะทำให้เกิดการสอดพ้องของคลื่น (Resonance) ทำให้แสงที่ความถี่นั้นถูกดูดกลืนไป เป็นหลักการการเกิด LSPR [50] การใช้ GNPs สามารถทำการปรับเปลี่ยนความยาวคลื่นของแสงที่เหมาะสมในการขยายสัญญาณได้ง่ายจากการเปลี่ยนแปลงขนาดของ GNPs

(2) การปรับปรุงพื้นผิวเพื่อสร้าง GNPs/FOB

เป็นการปรับปรุงเชิงเคมีของวัสดุเพื่อเปลี่ยนแปลงหมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิวของไฟเบอร์และเพิ่มชั้น Self-assembled monolayer (SAM) ซึ่งเป็นชั้นตัวกลางในการยึดติดกับ GNPs หรือ Gold nanostructures อื่นๆ โดยปกติแล้วพื้นผิวของไฟเบอร์ที่ใช้จะเป็นพื้นผิวบริเวณแกนกลางของไฟเบอร์ออปติค เพื่อใช้ประโยชน์จาก Evanescent wave ในการกระตุ้น GNPs ซึ่งโครงสร้างโดยทั่วไปของ GNPs/FOB จะเป็นดังภาพที่ 2.28



ภาพที่ 2.28 โครงสร้างของ GNPs/FOB โดยแสดงถึง Evanescent wave ที่เกิดขึ้นทั้งจากพื้นผิวของไฟเบอร์ออปติกและการเกิด LSPR

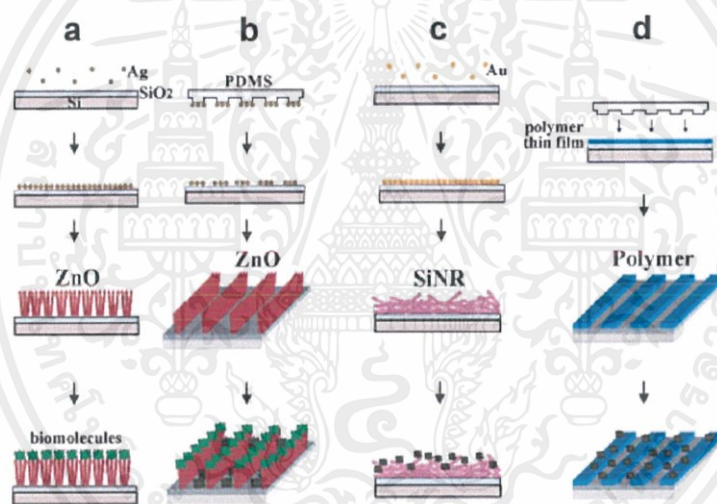
2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ไบโอเซนเซอร์มีการพัฒนาอย่างยาวนาน ซึ่งรูปแบบของไบโอเซนเซอร์ก็มีด้วยกันหลากหลายรูปแบบตามลักษณะของทรานสดิวเซอร์ ที่ได้กล่าวข้างต้น ซึ่งในงานวิจัยนี้มีขอบเขตในการศึกษาไบโอเซนเซอร์เชิงแสงที่มีการนำอนุภาคทองนาโน (GNPs) เข้ามาช่วยในการเพิ่มประสิทธิภาพของเซนเซอร์ไม่ว่าในแง่ของค่า sensitivity และ Limit of Detection: LOD ซึ่งเป็นสองสมบัติหลักๆ ที่เป็นที่ยอมรับในการเพิ่มประสิทธิภาพในช่วงที่ผ่านมา ซึ่งงานวิจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องจะพิจารณาตามช่วงเวลา ดังต่อไปนี้

ในปีพ.ศ. 2548-2549 (ค.ศ.2006) โครงสร้างนาโนได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้เป็นไบโอเซนเซอร์ในการตรวจวัด DNA และโปรตีน โดยเป็นระบบการตรวจวัดโดยใช้แสงฟลูออเรสเซนซ์ [43] ซึ่งหมายความว่า จะมีโมเลกุลที่สามารถปล่อยแสงฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence label) ติดอยู่กับโครงสร้างการตรวจวัด ซึ่งโครงสร้างนาโนที่นำมาใช้คือ ซิงค์ออกไซด์ (ZnO) ซึ่งมีรูปแบบโครงสร้างที่สร้างขึ้นเป็นแถวเรียงกัน โดยมีช่องว่างตรงกลาง (ZnO Platform) (ภาพที่ 2.29ข) และโครงสร้างแท่ง ZnO (ZnO nanorods: ZnONRs) (ภาพที่ 2.29ก) ซึ่งเป็นการสร้างโดยใช้เพียงเทคนิคทางกายภาพเท่านั้น โดยผลที่ได้เทียบกับระบบที่ใช้ โพลิเมอร์แบบพิมพ์ลายลงไป (Imprinted polymer) (ภาพที่ 2.29ง) และโครงสร้างนาโน ของ Silicon nanorods (SiNRs) (ภาพที่ 2.29ค) ซึ่งมี Bioreceptor คือ antibovine IgG และลำดับเบสของดีเอ็นเอ สายเดี่ยว และมี analyte เป็น Bovine

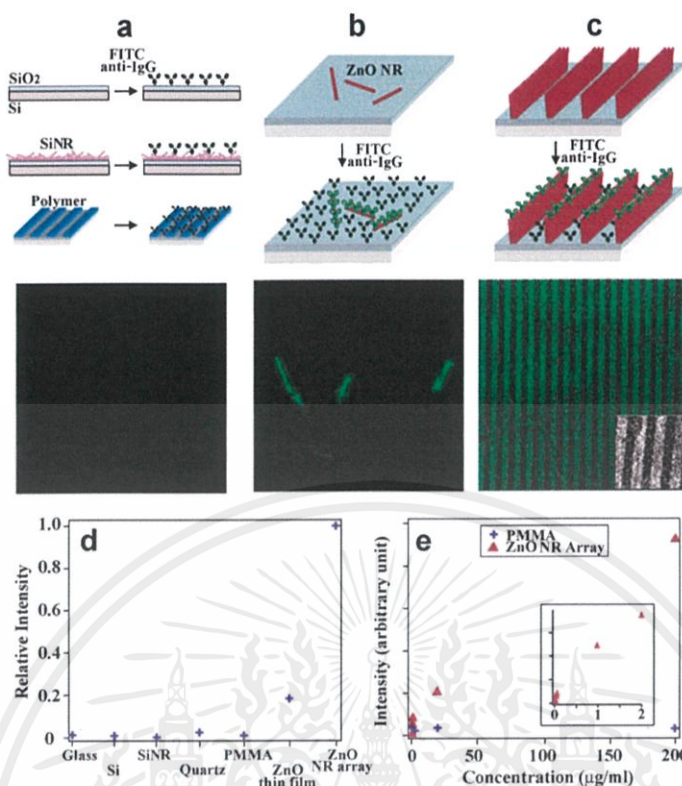
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และคู่ลำดับดีเอ็นเอสายเดี่ยว ซึ่งมีโมเลกุลฟลูออเรสเซนต์อยู่ พบว่า เมื่อนำไปตรวจสอบโปรตีน หรือดีเอ็นเอเป้าหมาย พบว่า (ภาพที่ 2.30) โครงสร้างแบบ ZnO platform มีประสิทธิภาพดีที่สุด คือ ค่า LOD อยู่ที่ 0.2 ng/mL และค่าความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนต์ที่ออกมามีค่ามากเป็น 1000 เท่าของรูปแบบอื่นๆ สำหรับการตรวจสอบโปรตีน และค่า LOD ในการตรวจวัด DNA นั้น มีค่าที่ต่ำมากในระดับนาโนกรัม ซึ่งไม่สามารถระบุเป็นค่าที่ชัดเจนได้ ในปีต่อมานั้นงานวิจัยที่ใช้ไฟเบอร์ออปติกและ GNPs เป็นตัวขยายสัญญาณ ในการพัฒนาประสิทธิภาพของไบโอเซนเซอร์ ในการวัด Ni^{2+} สาร Streptavidin และ Staphylococcal enterotoxin B [44] ซึ่งทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงเชิงแสง นั่นคือ ค่าความเข้มแสงที่ดูดกลืนเข้าไป เนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีหักเห ซึ่งสำหรับการวัด Ni^{2+} การดูดกลืนแสงที่ 538nm และ LOD มีค่าเท่ากับ 1.7×10^{-5} M สำหรับสาร Streptavidin การดูดกลืนแสงที่ 531nm และ ค่า LOD มีค่าเท่ากับ 7.8×10^{-10} M และ Staphylococcal enterotoxin B ค่า LOD อยู่ที่ 0.04 ng/mL ซึ่งน้อยกว่าระบบมาตรฐานที่วัดกันอยู่คือ ELISA ที่อยู่ที่ 1 ng/mL



ภาพที่ 2.29 โครงสร้างของรูปแบบเซนเซอร์ $25 \mu\text{m} \times 25 \mu\text{m}$ a) ZnO NRs b) ZnO platform c) SiNR d) Polymer imprint

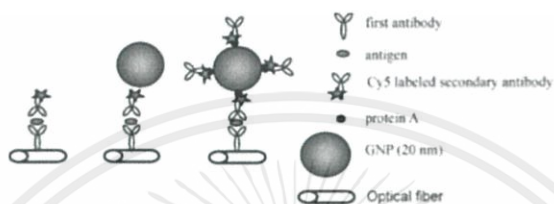
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



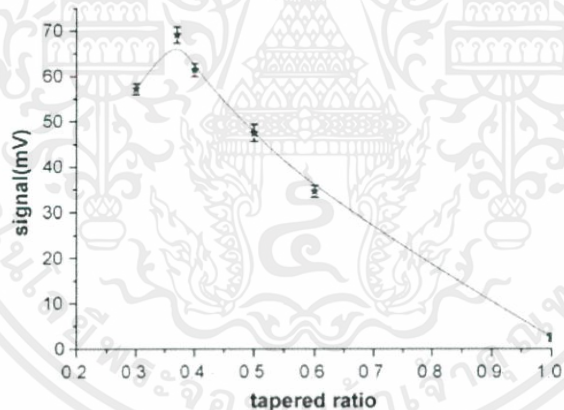
ภาพที่ 2.30 (a) โครงสร้าง SiNR และ Polymer imprint ซึ่งไม่สังเกตเห็นการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ (b) และ (c) เกิดแสงฟลูออเรสเซนซ์เกิดขึ้นโดยที่แบบ (c) จะเกิดในความเข้มที่สูงมากกว่าตามแถวที่ออกแบบไว้

ในอีกสองปีต่อมา พ.ศ. 2550 (ค.ศ.2007) การใช้ GNPs เพื่อเพิ่มขยายสัญญาณการตรวจวัดของ FOB ยังคงได้รับความนิยม แต่มีการปรับปรุงนำไปใช้ในการนำเอาผลจาก ปราบฏการณ์ LSPR ไปเพิ่มการกระตุ้นให้เกิดแสงฟลูออเรสเซนซ์เพิ่มมากขึ้นในการตรวจวัด Cy5 antigen โดยการสร้างโมเลกุลร่วม ของอนุภาคทองคำนาโนและ Cy5 antibody เรียกว่า Cy5-antibody-GNPs ผ่านตัวกลางคือ protein A และติดโมเลกุลฟลูออเรสเซนซ์ [23] ซึ่งการออกแบบโครงสร้างของเซนเซอร์ออกเป็นรูปแบบแซนวิช โดยติด Antibody (Ab) ตัวแรกติดกับพื้นผิวของไฟเบอร์ออปติก ซึ่ง Ab ตัวนี้จะเป็นตัวจับกับ Analyte (Antigen) โดยมีโครงสร้างร่วมเป็นตัวขยายสัญญาณ (ภาพที่ 2.31) พบว่า เมื่อการนำ GNPs มาใช้ในการขยายสัญญาณ สามารถเพิ่มความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ ได้ถึง 250 เท่า โดยมีค่า LOD เท่ากับ 1pg/mL ซึ่งมากกว่าแบบที่ไม่มีโครงสร้าง GNPs เข้ามาช่วยซึ่งมีค่าอยู่ที่ 100 ng/mL หรือการเพิ่มขึ้นของsensitivity ถึง 10^5 เท่า ในขณะที่ในช่วงเวลานี้ ได้มีอีกหนึ่งงานวิจัยที่ศึกษาถึงลักษณะของไฟเบอร์ออปติกที่ใช้ในการวิจัยโดยไม่มีการใช้ GNPs เข้ามาช่วย โดยอาศัยหลักเพียงแค่ การเกิดการเปลี่ยนแปลง กับ Evanescent wave บนพื้นผิวของไฟเบอร์เท่านั้น ซึ่งมีการศึกษาทั้ง Single-Multi mode ไฟเบอร์ ซึ่งจะแตกต่างกันที่ลักษณะการปลอกไฟเบอร์ (Taped เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

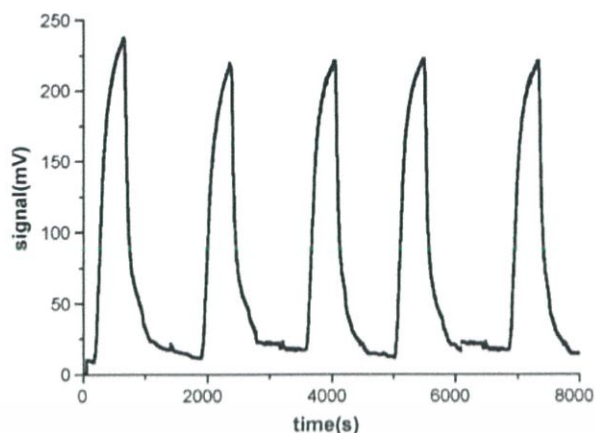
fiber optic) หรือ Aspect ratio ของการปลูกไฟเบอร์ออฟติก โดยวัดความสามารถของเซนเซอร์ได้จากการตรวจวัด 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) และ Microcystin-LR (MC-LR) [45] ซึ่งพบว่า ที่ Aspect ratio ประมาณ 0.37 มีประสิทธิภาพสูงสุด(ภาพที่ 2.32) คือ มีค่า LOD ของ 2,4-D เป็น 0.09 $\mu\text{g/L}$ และของ MC-LR เป็น 0.03 $\mu\text{g/L}$ ซึ่งนอกจากนี้เซนเซอร์ตัวนี้ยังมีความสามารถในการนำกลับมาใช้ใหม่ได้เป็นอย่างดีดังภาพที่ 2.33 ซึ่งพบว่า เมื่อเวลาผ่านไปสัญญาณที่ออกมาจากเซนเซอร์มีค่าการตอบสนองคงที่จากการวัดจาก 0 ถึง 8000 ชั่วโมง



ภาพที่ 2.31 โมเดลการจัดเรียงตัวของ Cy5 antigen Immunoassay โดยใช้รูปแบบแขนวิชในการตรวจจับและมี GNPsเป็นตัวช่วยในการขยายสัญญาณในการไปกระตุ้น Fluorescence



ภาพที่ 2.32 ความสัมพันธ์ของอัตราส่วนของแกนกลางไฟเบอร์ออฟติก กับค่าสัญญาณที่ได้ ซึ่งมีค่าสูงสุดที่ ค่าaspect ratio ประมาณ 0.37 หลังจากนั้นสัญญาณจะลดลงอย่างต่อเนื่อง



ภาพที่ 2.33 แสดงสมบัติการนำเซนเซอร์กลับมาใช้ใหม่ ซึ่งไบโอเซนเซอร์นี้มีความคงตัวของสัญญาณที่ดีมาก เมื่อมีการใช้งานเป็นระยะเวลาสั้น

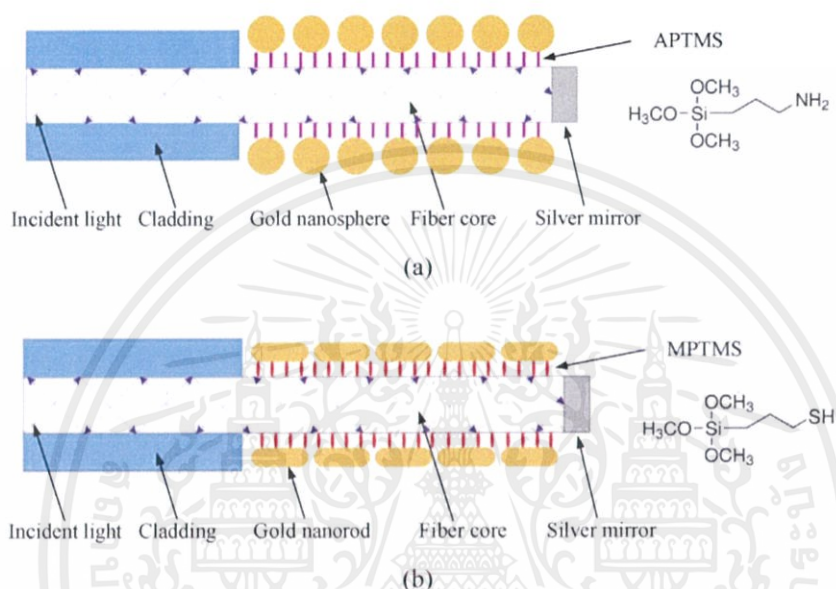
ในปีพ.ศ. 2554 มีการพัฒนานำระบบไมโครฟลูอิดิกขึ้นมาผสมกับระบบ particle-resonance biosensors โดยอาศัย GNPs หรือ AgNPs ที่ตรึงอยู่บนพื้นผิวของแกนกลางไฟเบอร์ออปติก เพื่อเป็นตัวขยายสัญญาณ (Amplifier) ซึ่งมีเป้าหมายในการลด Respond time และค่า LOD [46] ซึ่งระบบ Microfluidic chip สร้างขึ้นจาก Poly(methylmethacrylate) (PMMA) ขนาด 4.0 เซนติเมตร x 900 ไมโครเมตร x 900 ไมโครเมตร ซึ่งบริเวณภายในท่อบรรจุไฟเบอร์ออปติกที่ปลอกแกนกลางแล้ว ซึ่งจะทำให้การใส่สารละลายน้ำตาล 14 ไมโครลิตร ที่มีค่าดัชนีหักเหแตกต่างกัน ใช้ในการตรวจวัด Anti-DNP Anti-biotin และ Streptavidin ซึ่งได้ค่า Respond time คือ 294 279 และ 169 วินาที และค่า LOD เป็น $1.2 \times 10^{-12} \text{M}$ 3.3×10^{-9} และ $1.1 \times 10^{-11} \text{M}$ ตามลำดับ ซึ่งมีค่าพัฒนาขึ้น 33 เท่า 16 เท่า และ 9 เท่า เมื่อเทียบกับระบบตรวจปกติที่ไม่มีระบบไมโครฟลูอิดิก เนื่องจากเมื่อสารละลายซูโครสอยู่ในระบบไมโครฟลูอิดิก จะมีค่าดัชนีหักเหเพิ่มขึ้น 2.4 เท่า

ในขณะเดียวกัน ก็มีการศึกษาหลักการการเพิ่มการตอบสนองของสัญญาณ ที่เพิ่มขึ้นจากการใช้ท่อนาโน โดยการเพิ่มสัญญาณทางไฟฟ้าที่เกิดการเสริมกัน ซึ่งนักวิจัยได้เรียกปรากฏการณ์นี้ว่า Plasmonic coupling ซึ่งเป็นการสอดคล้องกันระหว่าง LSPR และ SPR ซึ่งเป็นหลักการในการขยายสัญญาณในการเป็นไบโอเซนเซอร์ โดยงานวิจัยนี้ใช้การตรวจวัดทางแสงที่ความยาวคลื่น 782 นาโนเมตร ในการกระตุ้นปรากฏการณ์ [47,48]

การพัฒนาทางด้านไบโอเซนเซอร์เดินก้าวมาต่อถึงปีพ.ศ. 2556 การพัฒนานำวัสดุนาโนแบบอื่นๆ เข้ามาพัฒนาประสิทธิภาพของไบโอเซนเซอร์เพิ่มเติม นั่นคือ Gold nanorods (GNRs) ซึ่งได้นำมาเปรียบเทียบกับเพิ่มประสิทธิภาพด้วย GNPs [27] ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้ทำให้ต้องมีขั้นตอนการปรับปรุงพื้นผิวของไฟเบอร์ออปติกเพื่อตรึงวัสดุนาโนที่ต่างกัน กล่าวคือ ขั้นตอนการใช้ SAM ซึ่งเป็นชั้นตัวกลางระหว่างโครงสร้างวัสดุนาโนกับพื้นผิวแกนกลางของไฟเบอร์ออปติก ซึ่งจะเปลี่ยนเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(3-Mercaptopropyl)trimethoxysilane: MPTMS แทน (3-Aminopropyl)trimethoxysilane: APTMS ในการใช้ GNRs แทน GNPs เนื่องจากประจุบริเวณพื้นผิวภายนอกของโครงสร้างนาโนที่แตกต่างกัน (ภาพที่ 2.34) ซึ่งนำไปโอเซนเซอร์ที่ได้มาตรฐานวัด Human IgG antibody ซึ่งพบว่า มีค่า sensitivity ต่อการเปลี่ยนแปลงค่า Refractive index เป็น 914 nm/RIU และ 601 nm/RIU สำหรับ GNPs และ GNRs และ มีค่า LOD เท่ากันที่ 1.6 nM ซึ่งสรุปการทบทวนวรรณกรรมจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้องแสดงในตารางที่ 2.1



ภาพที่ 2.34 โครงสร้างของไฟเบอร์ออปติกที่ใช้ GNPs และ GNRs

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 สรุปการทบทวนวรรณกรรมจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Analyte	Mode of Detection	Nanostructures	Limit of Detection	Sensitivity	Respond time	Reference
Bovine antigen & target DNA	Fluorescence	ZnO NRs / ZnO NRs platform	rose 1000 fold for Bovine 0.2 ng/mL for DNA	not given	not given	[43] Dorfman, (2006)
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	[36] Chau, L, (2006)
Cy5 antigen	Fluorescence	GNPs	1pg/mL	10 ⁵ fold	not given	[20] Hsiesh, B, (2007)
2,4dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) & Microcystin-LR (MC-LR)	Evanescent wave (Absorbance)	none	2,4-D = 0.09 µg/L MC-LR = 0.03 µg/L	not given	not given	[37] Long, F, (2008)
Anti-DNP, Anti-biotin & Streptavidin	Microfluidic and Evanescient 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	[38] Hsu, W, (2008)
Human IgG antibody	Evanescent wave (Absorbance)	GNRs and GNPs	both 1.6 nM	GNRs 601 nm/RIU GNPs 914 nm/RIU	not given	[24] Cao, J, (2013)

งานวิจัยนี้ทำการศึกษาและเตรียมอนุภาคทองคำนาโนไฟเบอร์ออปติกไบโอเซนเซอร์ (Gold nanoparticles fiber-optic biosensors: GNPs/FOB) และทดสอบประสิทธิภาพในด้านของ Sensitivity, Limit of detection รวมถึง Respond time โดยการเตรียมไฟเบอร์ออปติกที่ลอกชั้น Cladding บริเวณตรงกลางออกและทำการปรับปรุงเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางพื้นผิว (Surface modification) บริเวณแกนกลางของไฟเบอร์ออปติกโดยมีเป้าหมายในการตรึงอนุภาคทองคำนาโน โดยการใช้สารจำพวก self assembly monolayer; SAM ซึ่ง SAM ที่เลือกใช้จะเป็นโครงสร้างของ คือ (3-Aminopropyl)triethoxysilan: APTES ซึ่งมีราคาต่ำกว่า APTMS ที่นิยมใช้กันในปัจจุบัน รวมถึงการกระตุ้นให้เกิดการขยายสัญญาณจาก Evanescent wave ที่เปลี่ยนแปลง ด้วยการเคลือบด้วยชั้นอนุภาคทองคำนาโน เพื่อประสิทธิภาพที่ดีขึ้นของไบโอเซนเซอร์ และการประยุกต์ใช้เป็น Immunosensors ในการตรวจวัดคู่แอนติเจน-แอนติบอดีของโลหิตตัวอย่าง และการสร้างอุปกรณ์การตรวจวัดไบโอเซนเซอร์เบื้องต้น พร้อมทั้งจะพัฒนาให้เป็นอุปกรณ์พกพาได้เพื่อประโยชน์ในทางการแพทย์และอื่นๆ ได้อีกในอนาคต



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

งานวิจัยนี้มีอุปกรณ์และระเบียบวิธีการวิจัย เพื่อศึกษาการใช้อนุภาคทองคำนาโนมาพัฒนาปรับปรุงไฟเบอร์ออปติกไบโอเซนเซอร์ เพื่อตรวจวัดสารชีวโมเลกุล เช่น โพรตีน และ คู่แอนติเจน-แอนติบอดี โดยสามารถแบ่งออกเป็น 3 ส่วนหลัก ดังนี้

3.1 วัสดุและอุปกรณ์ในการดำเนินงานวิจัย

3.1.1 สารเคมีและสารชีวโมเลกุลในการวิจัย

- (1) (3-Aminopropyl)-triethoxysilane (APTES) ใช้เป็นชั้นเซลฟ์แอสเซมบลีโมโนเลเยอร์ จากบริษัท Sigma-Aldrich จำกัด
- (2) Trisodiumcitrate (TSC) ในการสังเคราะห์อนุภาคทองคำนาโน จากบริษัท Sigma-Aldrich จำกัด
- (3) กรดอะซิติก (CH_3COOH) ในการเตรียมสารละลาย APTES จากบริษัท CARLO ERBA Reagents S.A.S จำกัด
- (4) เมทานอล (CH_3OH) ในการเตรียมสารละลาย APTES จากบริษัท CARLO ERBA Reagents S.A.S จำกัด
- (5) กรดซัลฟูริก (H_2SO_4) ในการเตรียมสารละลาย Piranha จากบริษัท Sigma-Aldrich จำกัด
- (6) สารละลาย 30% ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ในการเตรียมสารละลาย Piranha จากบริษัท CARLO ERBA Reagents S.A.S จำกัด
- (7) 11-Mercaptoundecanoic acid (11-MUA) ในการเปลี่ยนแปลงหมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิวของ GNPs จากบริษัท Sigma-Aldrich จำกัด
- (8) 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride (EDC) ในการกระตุ้นหมู่ฟังก์ชันคาร์บอกซิลิก ($-\text{COOH}$) บนพื้นผิว GNPs จากบริษัท Sigma-Aldrich จำกัด
- (9) N-hydroxysulfosuccinimide (Sulfo-NHS) ในการกระตุ้นหมู่ฟังก์ชันคาร์บอกซิลิก ($-\text{COOH}$) บนพื้นผิว GNPs จากบริษัท Sigma-Aldrich จำกัด
- (10) Phosphate buffered saline (PBS) ใช้เป็นสารละลายบัฟเฟอร์สำหรับการทดลอง โดยละลาย 1 เม็ด ในน้ำปลอดประจุ 100 ml จากบริษัท Sigma-Aldrich จำกัด
- (11) Ethanolamine pH 8.5 ในการบล็อกพื้นผิวที่ไม่มีการเคลือบชั้นแอนติบอดี (Ab) จากบริษัท Sigma-Aldrich จำกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(12) ชุดทดสอบหมู่เลือด ABO ประกอบด้วยแอนติบอดีเอ และสารละลายเลือดหมู่เอ หมู่บี และหมู่โอ จากสภากาชาดไทย

(13) กลีเซอรอล ในการวัดค่าการเปลี่ยนแปลงสัญญาณเมื่อการเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีหักเห จากบริษัท CARLO ERBA Reagents S.A.S จำกัด

3.1.2 ไฟเบอร์ออปติก (Fiber-optic: FO)

ระบบการตรวจวัดทั้งหมดถูกสร้างขึ้นบนผิวของชั้นแกนกลางของเส้นไฟเบอร์ออปติก ขนาดแกนกลาง 400 ไมโครเมตร รุ่น FT-400 UMT (OH HIGH) ของบริษัท 3M ประเทศไทย จำกัด (ภาพที่ 3.1)



ภาพที่ 3.1 โครงสร้างของไฟเบอร์ออปติก (Fiber-optic) รุ่น FT-400 UMT (OH HIGH) ที่ใช้

3.1.3 เครื่องมือวิเคราะห์ผล

ลักษณะทางกายภาพของ GNPs ด้วยเครื่อง Field Effect Electron Microscope (FE-SEM) รุ่น JSM 6335 F ของคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และ Optical microscope ของบริษัท Olympus รุ่น BX51

ในระบบการวัดค่าการทะลุผ่านของแสง (T) ของ GNPs/FOB อาศัยเครื่อง Hamamatsu mini-spectrometer รุ่น TG-SWNIR : C9405CA (500-1100nm) โดยใช้ตัวกำเนิดแสงกระตุ้นให้เกิดอัตรกิริยา เป็นหลอดแอลอีดีสีขาว (COOLED WHITE LED: 5500K) ของบริษัท Mightex จำกัด และเครื่องวัดดัชนีหักเหของสาร Abbe refractometer : 2WAJ จากบริษัท Optika microscopes จำกัด

3.2 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

3.2.1 การสังเคราะห์อนุภาคทองคำนาโน (Gold nanoparticles: GNPs)

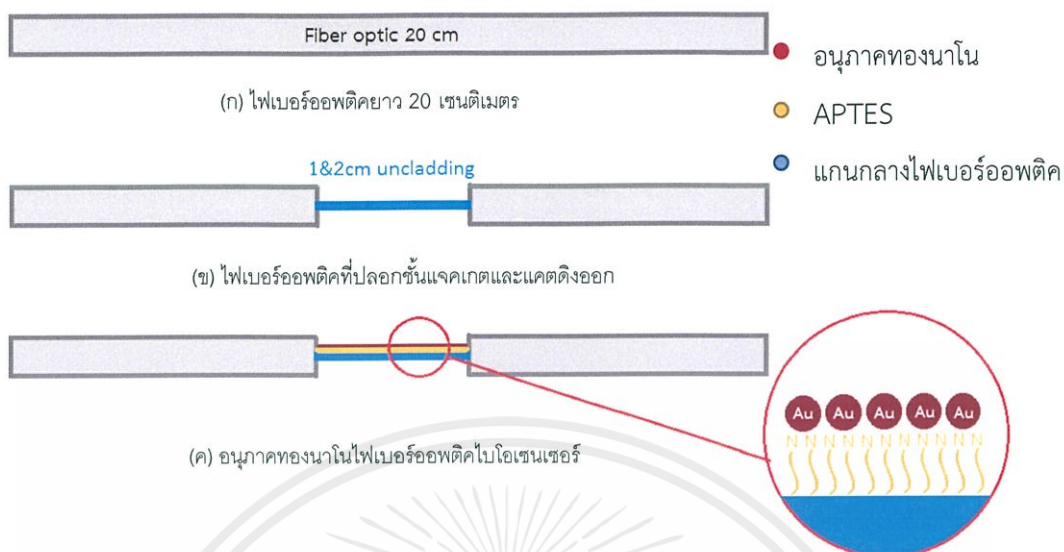
นำสารละลาย 0.01% HAuCl_4 ในน้ำปอดประจุ (Deionized water: DI water) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ไปให้ความร้อนและกวนด้วยแท่งแม่เหล็ก ที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส จนกระทั่งสารละลายเดือด หลังจากนั้นเติมสารละลาย 1% TSC ปริมาตร 0.5 1 1.8 และ 3 มิลลิลิตรลงไปทันที รอจนกระทั่งสีของสารละลายเริ่มเปลี่ยนจากสีใสเป็นสีม่วง จึงหยุดการให้ความร้อนทันที แต่ยังคงกวนต่ออีก 15 นาที จะเริ่มเปลี่ยนเป็นสีแดงมากขึ้น และเก็บไว้ในภาชนะที่บดแสงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส [47] (ภาพที่ 3.6)

3.2.2 การเตรียมสารเคลือบแอสเซมบลีโมโนเลเยอร์ (Self-assembled monolayer: SAM)

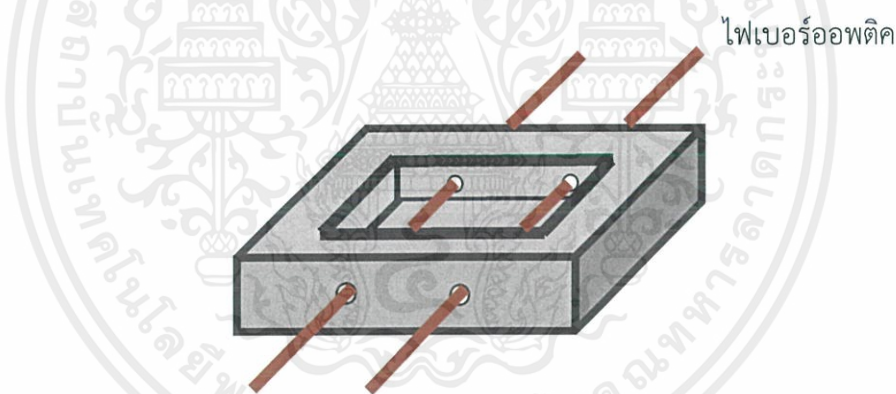
จากงานวิจัยเดิมที่ได้มีการเตรียมสารละลาย APTES [48] โดยนำเมทานอล ปริมาตร 100 มิลลิลิตรเป็นตัวทำละลาย ผสมเข้ากับ กรดอะซิติก (CH_3COOH) 5 ปริมาตรมิลลิลิตร และ APTES ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้เวลานาน 25-30 นาที เพื่อทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) (ภาพที่ 3.7)

3.2.3 การเตรียมอนุภาคทองคำนาโนไฟเบอร์ออฟติกไบโอเซนเซอร์ (GNPs/FOB)

(ภาพที่ 3.8) การเตรียมเส้นไฟเบอร์ออฟติกเป็นไปตามงานวิจัยหลายๆ งานวิจัยก่อนหน้านี้ [25] ตัดสายไฟเบอร์ออฟติกความยาวประมาณ 20 เซนติเมตร และปลอกส่วนแคลดดิง (Cladding) และแจ็คเก็ต (Jacket) ของสายไฟเบอร์ออฟติกบริเวณตรงกลางออก ประมาณ 1 และ 2 เซนติเมตร ให้เหลือแต่แกนกลางซึ่งเป็นแก้ว (glass) ของสายไฟเบอร์ออฟติก ด้วยการใช้อุปกรณ์การปลอกไฟเบอร์ออกอย่างระมัดระวัง จะได้ดังภาพที่ 3.2ข. ทำการชุบชั้นแคลดดิงออก หลังจากนั้นนำไปแช่ในอะซิโตน (acetone) เป็นเวลา 30 นาที และเป่าแห้งด้วยก๊าซไนโตรเจน จากนั้นทำความสะอาดและสร้างชั้นออกไซด์มากขึ้นที่ส่วนที่เป็นแกนแก้วไฟเบอร์ออฟติก โดยการแช่ในสารละลายกรด (Piranha solution) ($\text{H}_2\text{SO}_4:\text{H}_2\text{O}_2$, 70:30) เป็นเวลาประมาณ 15 นาที แล้วล้างด้วย DI water จากนั้นนำแกนกลางของไฟเบอร์ไปแช่ในสารละลาย APTES โดยใช้อุปกรณ์แช่ดังแสดงในภาพที่ 3.3 เป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้วทำการล้างด้วยเมทานอล และ DI และเป่าแห้งด้วยก๊าซไนโตรเจน หลังจากนั้นนำแกนกลางไฟเบอร์ไปแช่ต่อในสารละลายอนุภาคทองคำนาโนเป็น 8 ชั่วโมง ทำให้เกิดการเคลือบของชั้นอนุภาคทองคำนาโนบนผิวแก้วไฟเบอร์ออฟติกซึ่งมีโครงสร้าง ดังแสดงในภาพที่ 3.2ค



ภาพที่ 3.2 ขั้นตอนการเตรียมอนุภาคทองคำนาโนใยแก้วนำแสงโอบิโอสเซนเซอร์ (GNPs/FOB)



ภาพที่ 3.3 อุปกรณ์ในการแช่สารละลาย APTES และ สารละลาย GNPs ขนาด 3x3x1 ลูกบาศก์เซนติเมตร และมีช่องตรงกลางขนาด 2.5x2.5x0.75 ลูกบาศก์เซนติเมตร

3.2.4 การตรึงโมเลกุลหรือโครงสร้างโปรตีนและแอนติบอดีของหมู่โลหิต ABO

การตรึงคู่แอนติเจน-แอนติบอดี (Ab/GNPs/FOB)

งานวิจัยก่อนหน้านี้จำนวนหนึ่งได้กล่าวถึงวิธีการตรึงแอนติบอดีบนพื้นผิวของอนุภาคทองคำนาโน เพื่อเป็นตัวจับกับคู่แอนติเจน [25] ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้แอนติบอดีเอในการตรวจวัด โดยนำใยแก้วนำแสงทำ ออกซิเจนพลาสมา ระดับ Medium นาน 5 นาที เพื่อสร้างชั้น -OH บนพื้นผิว หลังจากนั้น แช่ GNPs/FOB ในสารละลาย 10 mM ของ 11-MUA ในเอทานอล ที่ 0°C ทำปฏิกิริยาข้ามคืน เพื่อสร้างหมู่คาร์บอกซิลิกเป็นพื้นผิวของอนุภาคทองคำนาโน หลังจากนั้นล้างด้วยเอทานอล เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

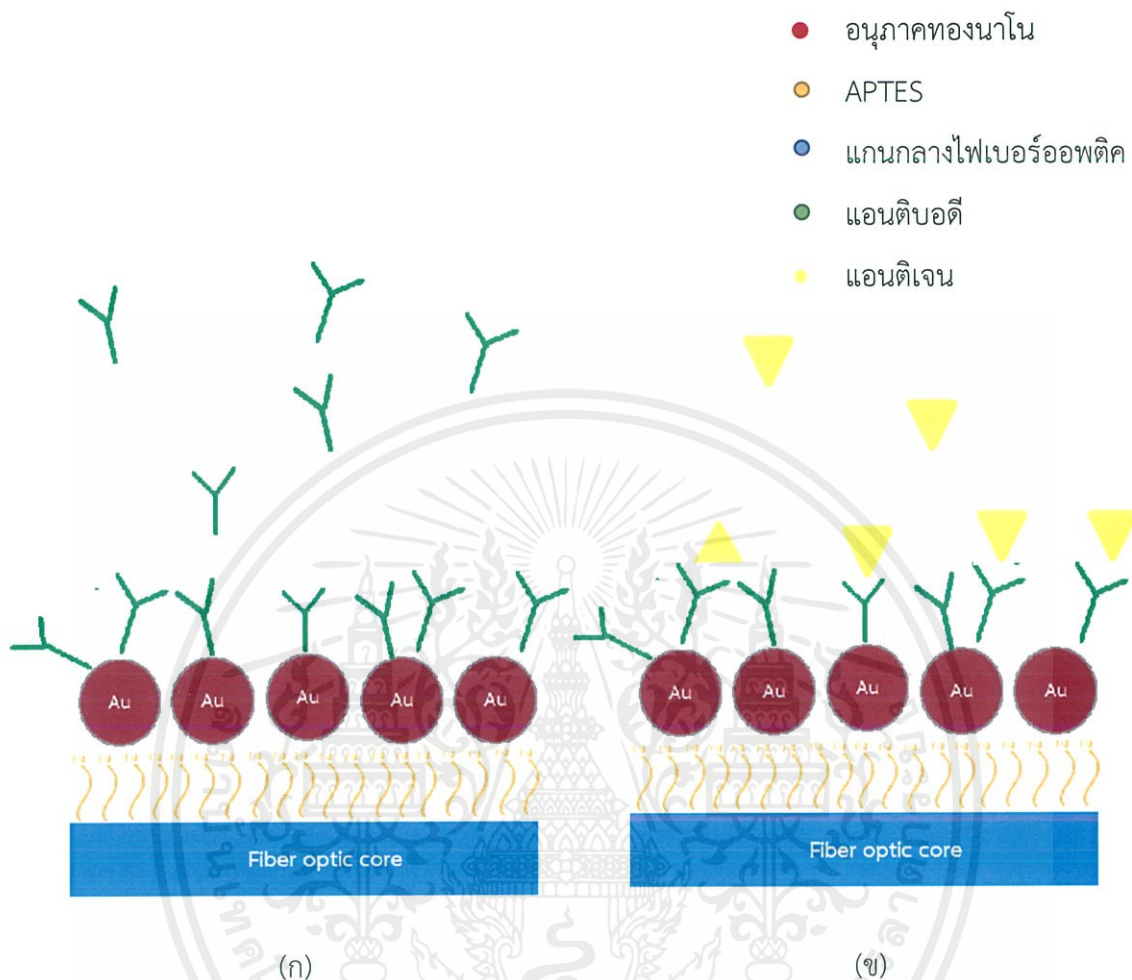
และ 0.01 M PBS บัฟเฟอร์ pH 7.4 เพื่อขจัดโมเลกุล MUA ที่ไม่สามารถยึดติดได้ นำเซนเซอร์ที่ได้ไปแช่ในสารละลายผสมระหว่าง EDC และ Sulfo-NHS ในสัดส่วนความเข้มข้น 4:1 และในสัดส่วน 1:1 โดยปริมาตร นาน 15 นาที และล้างด้วย PBS บัฟเฟอร์ pH 7.4 ซึ่งสารละลายนี้จะสามารถมีประสิทธิภาพเพียงแค่ว่า 30 นาที ดังนั้นการยึดติด Ab ควรทำภายใน 30 นาทีนี้ (ภาพที่ 3.9)

เตรียมสารละลายแอนติบอดีเอ (Ab-A) 5% โดยปริมาตร ในสารละลาย PBS และปรับ pH ให้เป็น pH 5.3 นำสารละลายที่ได้ไปแช่ GNP/FOB จากชั้นตอนข้างต้น นาน 15 นาที และล้างด้วยสารละลาย PBS หลังจากนั้นทำการบล็อกพื้นผิวของ Ab-A/GNP/FOB ที่ไม่มี Ab อยู่ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ Ethanolamine pH 8.5 นาน 10 นาที

Ab-A/GNP/FOB สามารถทำการคงสภาพ (Stabilization) ด้วยการแช่ในสาร Stabilizer ผสมกับน้ำ DI อัตราส่วน 1:1 เป็นเวลา 20 นาที และนำเข้ากระบวนการทำให้เป็นสุญญากาศ ด้วยเครื่อง Desiccators นาน 60 นาที และเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 3.9)

3.2.5 การเตรียมสารละลายแอนติเจนของหมู่โลหิต ABO

นำสารละลายตัวอย่างโลหิต ABO อย่างละ 1 มิลลิลิตร ผ่านการปั่นเหวี่ยง ที่ 4500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 4 นาที หลังจากนั้น ตั้งตะกอนที่เกิดขึ้นละลายในสารละลาย PBS ในสัดส่วน 3 5 และ 10% โดยปริมาตร หลังจากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปทำการวัดกับ Ab-A/GNP/FOB ในระบบที่เตรียมไว้ (ภาพที่ 3.10)

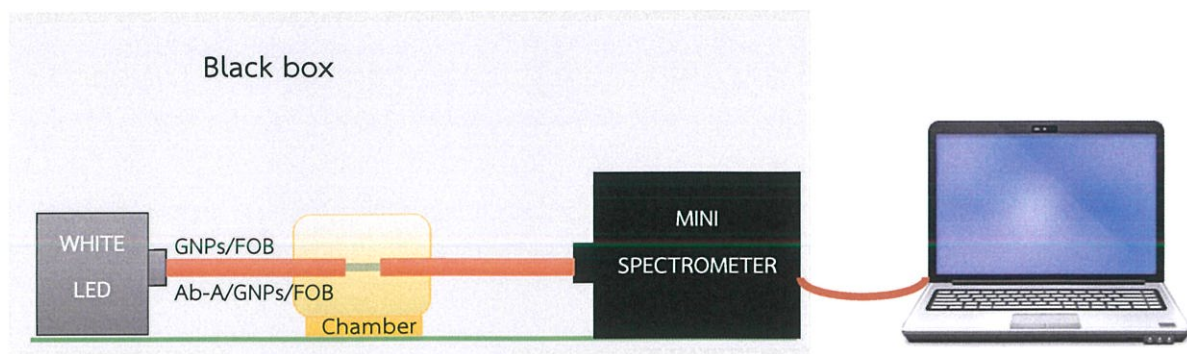


ภาพที่ 3.4 (ก) โครงสร้างของ Ab/GNPs/FOB (ข) โครงสร้างของ Ab/GNPs/FOB เมื่อมีแอนติเจนในระบบ

3.3 การตรวจวัดและวิเคราะห์ผล

ระบบการตรวจวัดใช้การจัดเตรียมเครื่องมือวัดทางแสงโดยใช้แสงขาว ที่อุณหภูมิ 5500K เป็นแสงกระตุ้นต่อเข้ากับไฟเบอร์ออฟติกไบโอเซนเซอร์และวัดการเปลี่ยนแปลงด้วย Hamamatsu mini-spectrometer โดยระบบทั้งหมดอยู่ในสภาวะที่บดแสง และทำการวัดที่อุณหภูมิห้อง (ภาพที่ 3.5) และโปรแกรมที่ใช้ดังในภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3.5 ระบบการตรวจวัด GNPs/FOB

3.3.1 การทดสอบความสามารถในการตอบสนองของเซนเซอร์ GNPs/FOB (Sensitivity)

ระบบการตรวจวัดนี้จะตรวจวัดตัว FOB ก่อนแช่ในสารละลายทองคำนาโน และ GNPs/FOB โดยตรวจวัดในสารละลายกลีเซอรอลในสารละลาย PBS ความเข้มข้น 0% 0.1% 0.2% 0.5% 1% และ 2% โดยปริมาตร (ค่าดัชนีหักเหสารต่างกัน) ภายในภาชนะใส่ (Chamber) เพื่อเป็นสารที่ใช้ในการวัดการเปลี่ยนแปลงของ LSPR หรือการหา sensitivity ของอุปกรณ์ โดยจะวัดจากค่าการทะลุผ่าน (T) ของแสง การประมวลผลผ่านเครื่องมินิสเปคโตรมิเตอร์ และการวิเคราะห์ผ่านโปรแกรม Specevaluation ซึ่งอาศัยการเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีหักเหบนพื้นผิวของชั้นอนุภาคทองคำนาโนที่ถูกกระตุ้นด้วยปรากฏการณ์ LSPR ที่ถูกขยายสัญญาณด้วยตัวอนุภาคทองคำนาโนเอง ซึ่งการเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีหักเหนี้จะทำให้สมบัติเชิงแสงของระบบเปลี่ยนไปนั่นคือ การทะลุผ่าน และการดูดกลืนแสง ซึ่งเป็นผลที่แสดงออกมาจากโปรแกรมนี้ และในการวิเคราะห์จะทำการตัดสัญญาณพื้นหลังออกก่อน (Dark) และวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงค่าการทะลุผ่าน (ΔT) ต่อการเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีหักเห (Δn) (ภาพที่ 3.11)

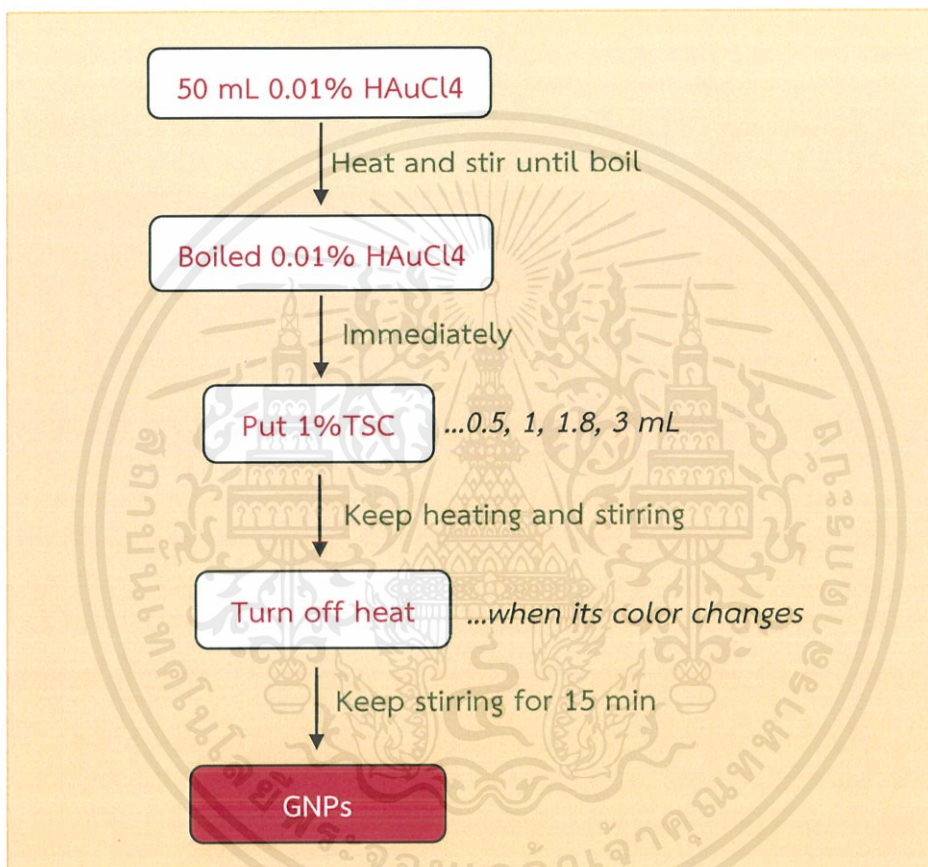
3.3.2 การทดสอบความเสถียรของเซนเซอร์ GNPs/FOB (Repeatability)

ในการทดสอบส่วนนี้จะทดสอบกับสารละลายกลีเซอรอลในสารละลาย PBS ที่ความเข้มข้นน้อยที่สุด ที่มีค่าสัญญาณการตอบสนองสูงกว่าค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณรบกวน (Noise) ของเครื่องวัดสามเท่า ($3 \times S.D.$) ซึ่งระบบตรวจวัดแสงนี้มีค่า S.D. ของ Noise ที่ประมาณ 50 Arbitrary Unit (A.U.) ดังนั้นสัญญาณที่นำมาใช้ได้จะต้องมีค่าสูงกว่า 150 A.U. ซึ่งมีกระบวนการวัดสลับกับการวัดสารละลาย PBS กระทำเช่นนี้ 3 ครั้ง และสังเกตการเปลี่ยนแปลงในแต่ละครั้งการวัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

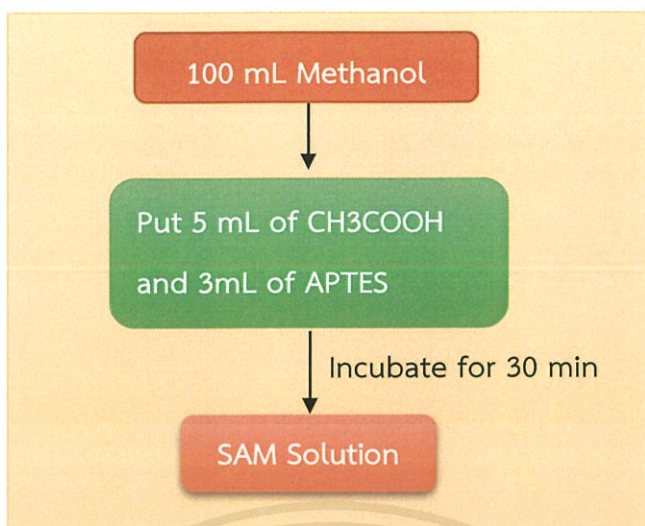
3.3.3 การทดสอบ Ab-A/GNPs/FOB กับสารชีวโมเลกุลตัวอย่าง หมู่โลหิต ABO

ในการทดลองนี้ นำเอาเซนเซอร์ที่ได้มาวัดกับสารละลายของโลหิตหมู่ A B และ O ที่ความเข้มข้น 3 5 และ 10% โดยปริมาตร เพื่อตรวจสอบความจำเพาะเจาะจงในการตรวจวัดของเซนเซอร์ ซึ่งจะตรวจวัดสลับกับสารละลาย PBS ซึ่งในการเปลี่ยนโลหิตแต่ละครั้งจะใช้ NaOH 5 มิลลิโมลาร์ ในการแยก Ag ออกจากระบบ หลังจากนั้นจะทำการล้างด้วย สารละลาย PBS 2 ครั้งก่อนที่จะเริ่มตรวจวัดตัวอย่างโลหิตชนิดถัดไป ขั้นตอนตามภาพที่ 3.12

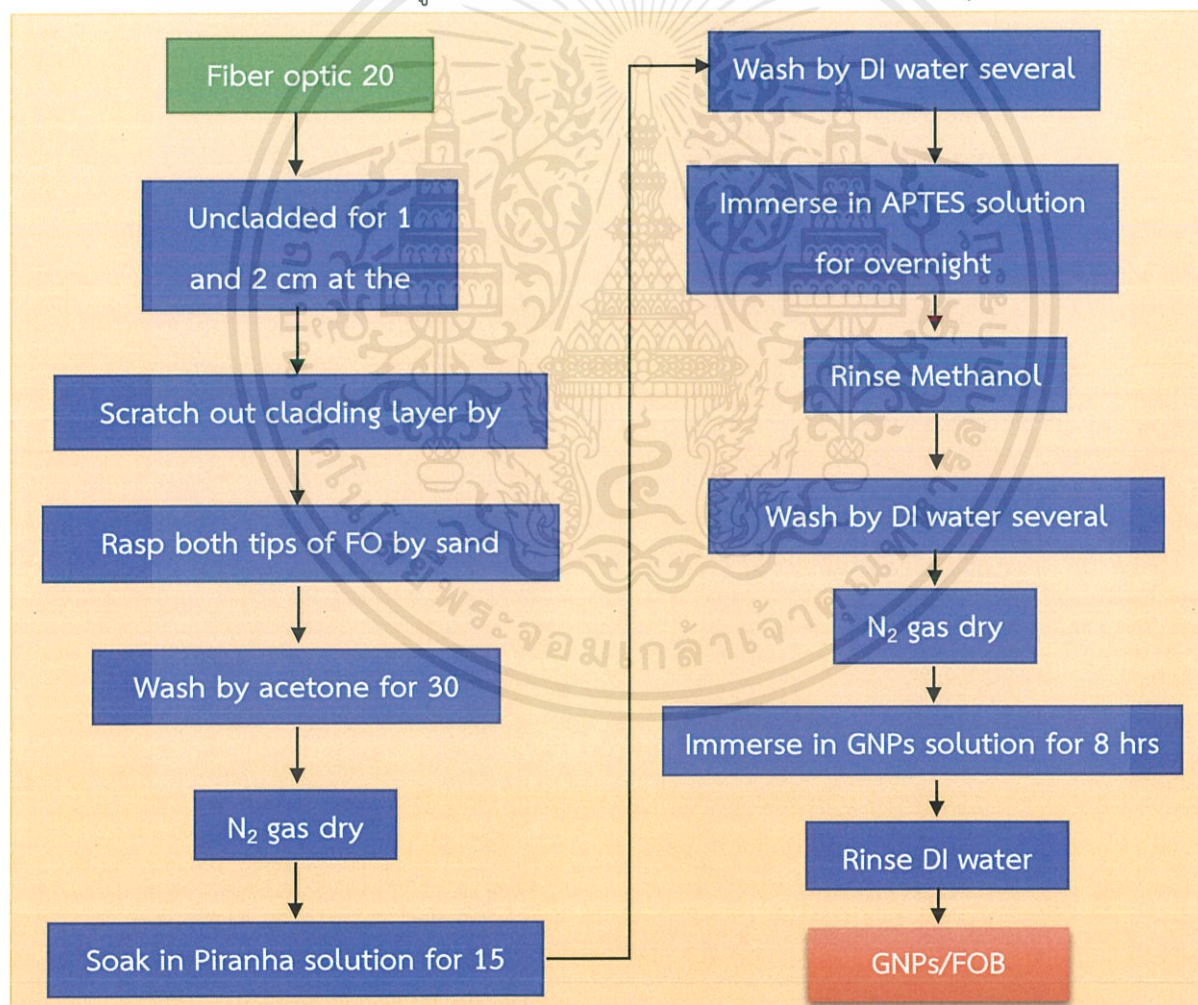


ภาพที่ 3.6 แผนภูมิขั้นตอนการสังเคราะห์อนุภาคทองคำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

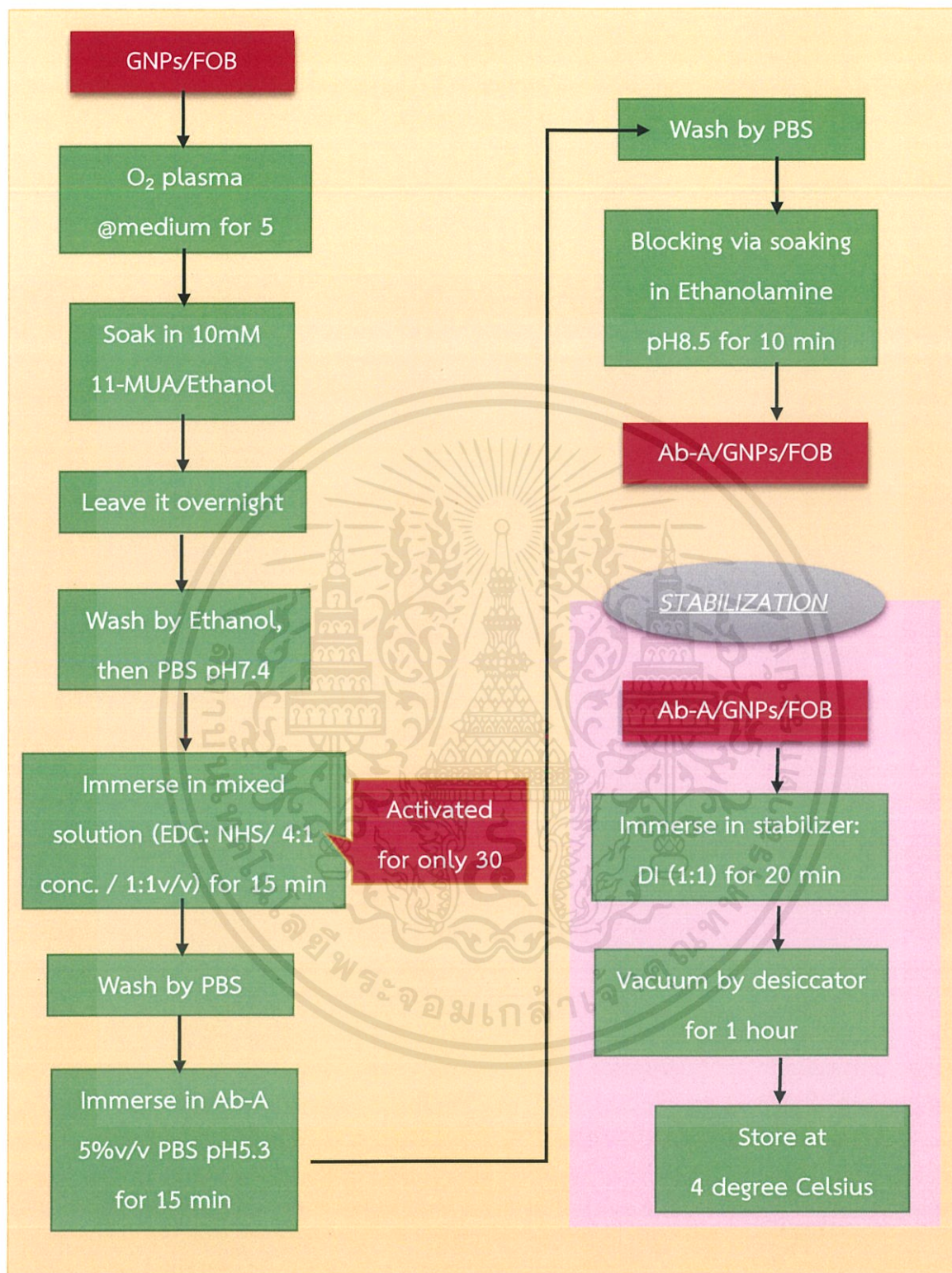


ภาพที่ 3.7 แผนภูมิขั้นตอนการเตรียมสารละลาย APTES (SAM Layer)



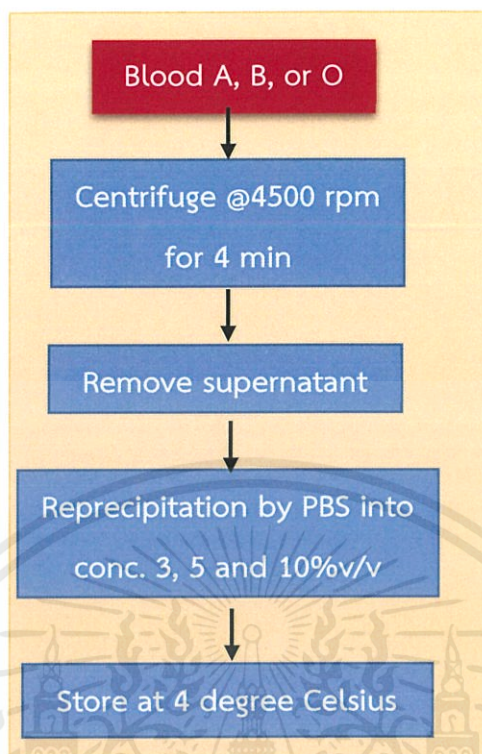
ภาพที่ 3.8 แผนภูมิขั้นตอนการเตรียม GNP/FOB

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

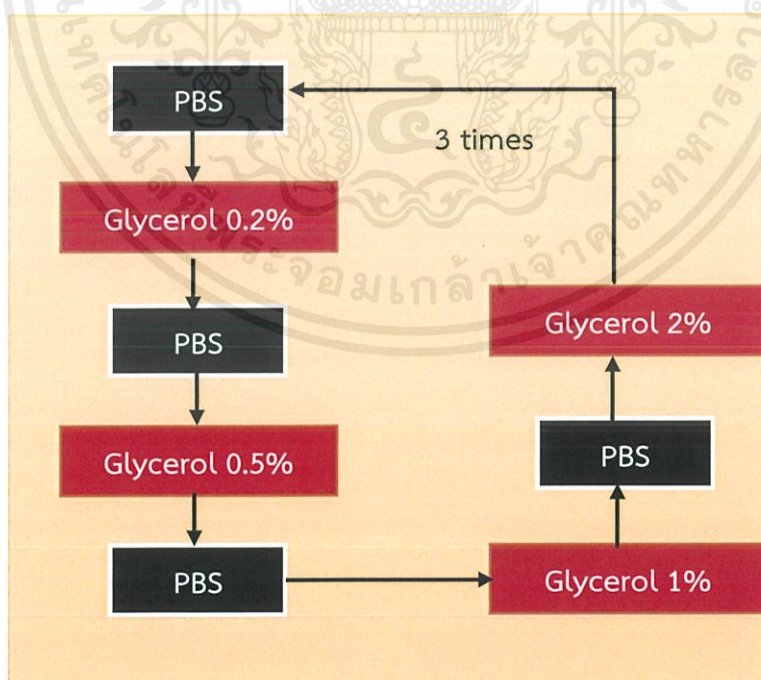


ภาพที่ 3.9 แผนภูมิขั้นตอนการฟังก์ชัน GNPs/FOB และการเก็บ (Stabilization) Ab-A/GNPs/FOB

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

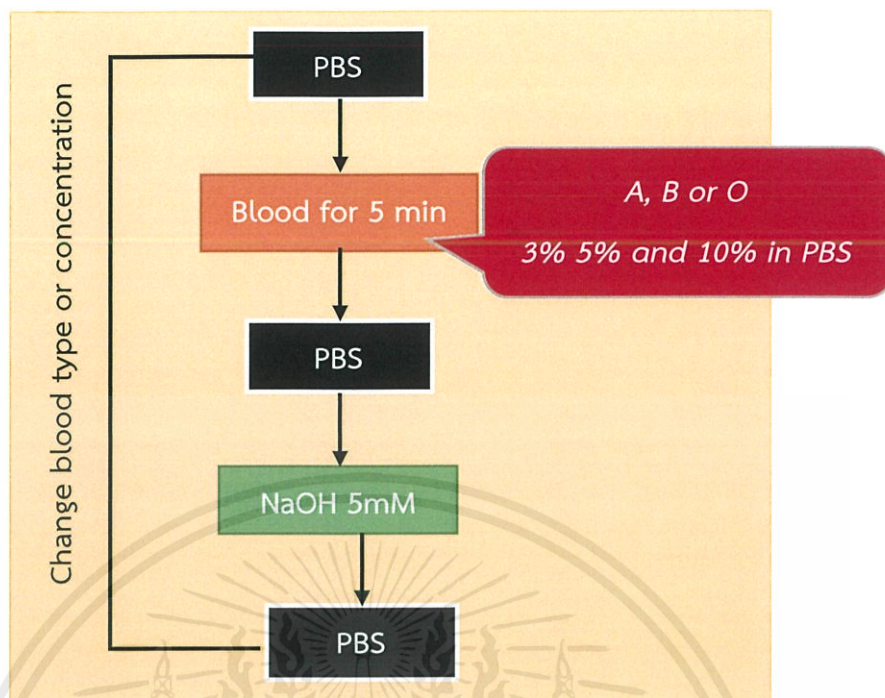


ภาพที่ 3.10 แผนภูมิขั้นตอนการเตรียม Ag ของโลหิตต่างๆ



ภาพที่ 3.11 แผนภูมิขั้นตอนการวัดเพื่อหาค่า sensitivity

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3.12 แผนภูมิขั้นตอนการวัดโปรตีนหมู่โลหิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

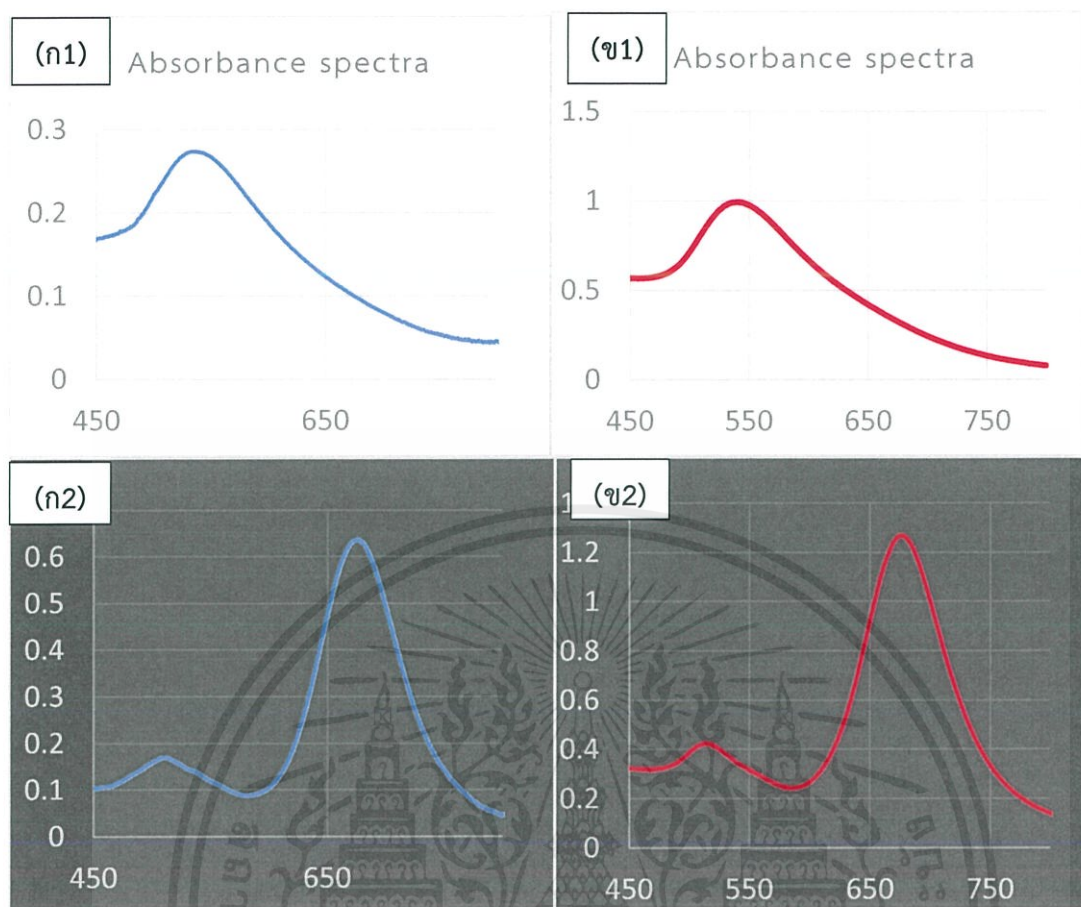
ผลการทดลอง

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

4.1 การติดตั้งและสอบเทียบเครื่อง Spectrometer ในระบบ

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

ในภาพที่ 4.1 เมื่อเปรียบเทียบลักษณะของกราฟแล้ว ลักษณะของกราฟที่มาจากกรวัดสองแบบ มีความใกล้เคียงกันอย่างมาก แตกต่างเพียงค่าความเข้มของสัญญาณที่ออกมา ซึ่งการวัดด้วยเครื่องมือ UV-visible spectroscopy จะได้ค่าความเข้มที่สูงกว่าทั้งสองสารละลาย และบริเวณที่ถูกดูดกลืนสูงสุดของแต่ละกราฟเป็นไปตามตารางที่ 4.1 ซึ่งสามารถชี้ได้ว่า ทั้งสองวิธีให้ช่วงการดูดกลืนที่ใกล้เคียงกันมาก มีค่าคลาดเคลื่อน 2.38 ± 1.20 นาโนเมตร



ระบบการวัดในงานวิจัยนี้

UV-Visible spectroscopy

ภาพที่ 4.1 การดูคลื่นแสงเปรียบเทียบระบบในงานวิจัยนี้ (ก) กับ เครื่อง UV-visible spectroscopy (ข) โดย ก1 และ ข1 เป็นการวัดสารละลาย GNPs ส่วน ก2 และ ข2 เป็นสารละลาย GNRs

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

	ความยาวคลื่นแสงที่ดูดกลืน(nm)	
	ระบบในงานวิจัย	UV-visible spectroscopy
GNPs	537.18	541
GNRs	675.53, 510.65	677, 514

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

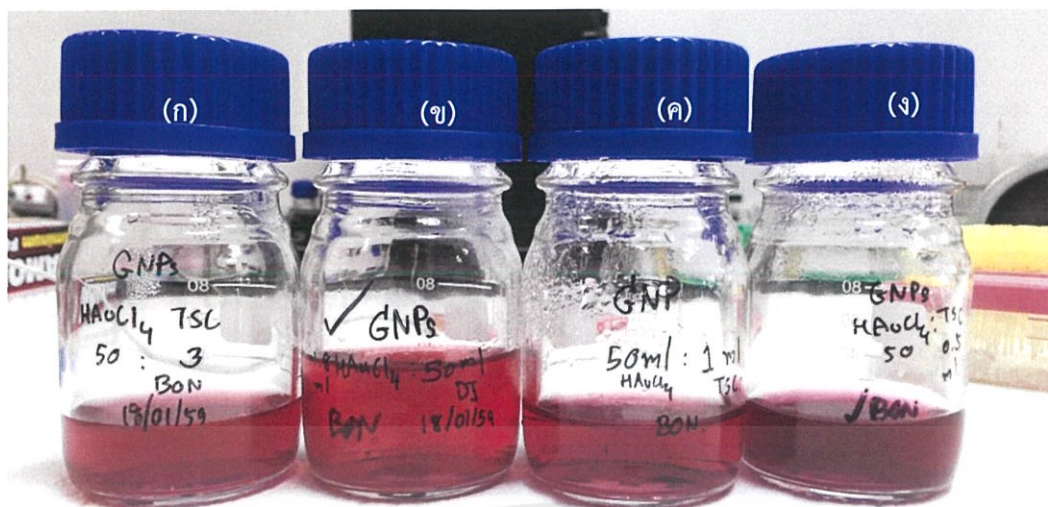
4.2 ลักษณะและสมบัติทางแสงของอนุภาคทองคำนาโน (GNPs)

ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาการสังเคราะห์ GNPs โดยอาศัยปฏิกิริยารีดักชันระหว่าง สารละลาย 0.01%w/w Chloroauric acid (HAuCl_4) กับ สารละลาย 1%w/w Trisodiumcitrate (TSC) ซึ่ง ปริมาณของสารละลาย TSC จะเป็นตัวกำหนดขนาดของ GNPs ซึ่งในการทดลองนี้ ใช้ปริมาณของ สารละลาย TSC ดังนี้ 0.5 1 1.8 และ 3 มิลลิลิตร ซึ่งได้ผลดังนี้

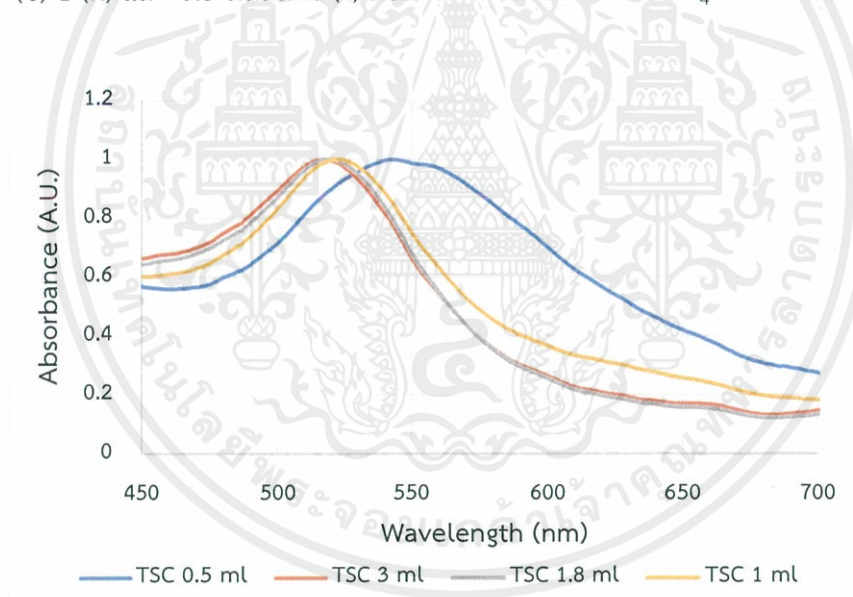
ตารางที่ 4.2 ขนาดของอนุภาคทองคำนาโนที่ความเข้มข้น 1%TSC ต่างๆ

ความเข้มข้น 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

จากตารางพบว่า ขนาดของ GNPs เป็นสัดส่วนกับปริมาณของ TSC ที่อยู่ในระบบ นั่นคือ เมื่อเพิ่มปริมาณของ TSC เพิ่มมากขึ้น ขนาดหรือเส้นผ่านศูนย์กลางของ GNPs จะลดลง ดังภาพ 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 [51-53] GNPs เมื่อยังมีขนาดเล็กจะทำให้มีค่าพลังงานพื้นผิวที่มาก (Surface Energy) เนื่องจากผลรวมประจุบวกบนพื้นผิวโมเลกุลมีค่าสูงมาก ซึ่งทำให้โมเลกุลของ GNPs นั้น เกิดความไม่เสถียรเป็นอย่างมาก ในการรักษาขนาดของ GNPs นั้น จึงใช้ประจุลบของโมเลกุล TSC เป็นสารในการรักษาเสถียรภาพ ดังนั้นการมีประจุลบหรือปริมาณ TSC ที่เพิ่มขึ้น ก็คือ การมีปริมาณอนุภาคลบที่เพิ่มขึ้น ทำให้สัดส่วนของทั้งสองประจุใกล้เคียงกันขึ้น ทำให้ขนาดของ GNPs ถูกจำกัดให้มีขนาดเล็กได้ จากสัดส่วนไอออนลบต่อไอออนบวกบนพื้นผิวที่เพิ่มขึ้น โดยขนาดของ อนุภาคทองคำนาโนที่เปลี่ยนไปส่งผลถึง สีของสารละลาย และสมบัติทางแสงของ GNPs ดังแสดงในภาพที่ 4.2 และ 4.3 ตามลำดับ



ภาพที่ 4.2 สีของอนุภาคทองคำนาโน ที่สังเคราะห์ได้ เมื่อใช้ปริมาณสารละลาย 1%TSC เป็น 3 (ก) 1.8 (ข) 1 (ค) และ 0.5 มิลลิลิตร (ง) ต่อสารละลาย 0.01% HAuCl₄ 50 มิลลิลิตร



ภาพที่ 4.3 การดูดกลืนแสงของอนุภาคทองคำนาโน ที่สังเคราะห์ได้ เมื่อใช้ปริมาณสารละลาย 1%TSC เป็น 3(สีส้ม) 1.8(สีเทา) 1(สีเหลือง) และ 0.5(ฟ้า) มิลลิลิตร ต่อสารละลาย 0.01% HAuCl₄ 50 มิลลิลิตร

ในการทดลองสังเคราะห์ทองคำนาโนขนาดต่างๆ โดยการกำหนดขนาดของอนุภาคทองคำนาโนจะได้สารละลายอนุภาคทองคำนาโนสีต่างๆ ออกมาดังภาพที่ 4.2 เห็นว่า เมื่อใส่ สารละลาย 1%TSC 0.5 มิลลิลิตร(ง) จะมีสีออกเป็นสีม่วงแดง คล้ายคลึงกับสีไวน์แดง และจะมีสีแดงขึ้นเรื่อยๆ เมื่อเพิ่มปริมาณเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารละลาย TSC ที่ใส่เข้าไป ซึ่งในเงื่อนไข ปริมาณสารละลาย 1%TSC เป็น 3(ก) 1.8(ข) และ1(ค) มิลลิลิตร ในสารละลาย 0.01% HAuCl₄ 50 มิลลิลิตร จะมีสีแดงที่ใกล้เคียงกัน และเมื่อทดสอบสมบัติการดูดกลืนแสงของสารละลาย GNPs จะได้ดังภาพที่ 4.3 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเมื่อลดปริมาณของ TSC ลง กราฟจะเกิดการดูดกลืนแสงในย่านแสงสีแดงมากขึ้น (Red shift) ดังตารางที่4.3 ซึ่งเป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ GNPs ที่ใหญ่ขึ้น นอกจากนี้พบว่าที่เงื่อนไข ปริมาณ TSC 0.5 มิลลิลิตร ช่วงการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองคำโนขยายมากขึ้น บ่งบอกถึงการรวมตัว (Aggregation) ของอนุภาคทำให้เริ่มสูญเสียสมบัติระดับนาโนของทองคำโน คือ สีและพื้นที่ผิวสัมผัส และด้วยการที่ความจำเพาะเจาะจงของช่วงการดูดกลืนที่น้อยลง ทำให้เงื่อนไขนี้ไม่ถูกนำมาทดลองในการเคลือบพื้นผิวของไฟเบอร์ออฟติก

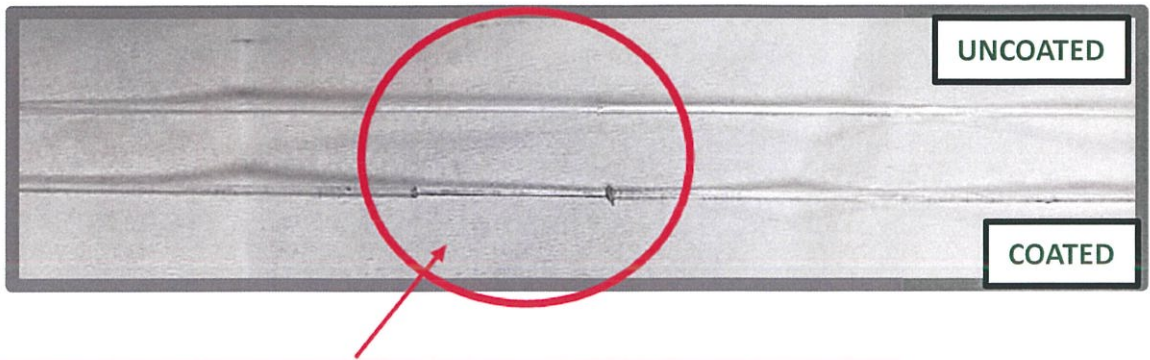
ตารางที่ 4.3 การดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) ของ GNPs เงื่อนไขต่างๆ

ปริมาณ 1%TSC(ml)	ความยาวคลื่นแสงที่ถูกดูดกลืนสูงสุด (nm)
0.5	543.71
1	522.34
1.8	519.02
3	517.35

4.3 ลักษณะและสมบัติที่ของ GNPs/FOB

4.3.1 การตรึง GNPs บนผิวไฟเบอร์ออฟติก และการทดลองผลของระยะความยาวในการปลูกไฟเบอร์ออฟติกชั้นนอกออก

ในการทดลองกำหนดความยาวของส่วนที่ปลูกชั้น cladding ของไฟเบอร์ออฟติกออกเป็น 1 และ 2 เซนติเมตร จากความยาวของเส้นไฟเบอร์ทั้งหมด 20 เซนติเมตร ที่มีการตรึงอนุภาคทองคำโน เปรียบเทียบกับเส้นไฟเบอร์ที่ไม่มีการตรึงอนุภาคทองคำโน จากความยาวของเส้นไฟเบอร์ทั้งหมด 20 เซนติเมตร และนำไปเคลือบ GNPs ที่ได้สังเคราะห์ขึ้น ในเงื่อนไข 1%TSC 1.8 mL โดยใช้ในการตรึงอนุภาคทองคำโนลงบนพื้นผิว โดยมีการปรับพื้นผิวด้วย APTES ซึ่งเป็นสารจำพวก Self-assembly monolayer หรือ SAM ใช้ในการตรึงอนุภาคทองคำโนบนผิวซิลิกา (core ของไฟเบอร์ออฟติก) ได้ผลดังนี้



GNPs ATTACHED ON UNCLADDED SURFACE

ภาพที่ 4.4 เส้นไฟเบอร์ออฟติกที่ตรึงอนุภาคทองคำนาโน และไม่ได้ตรึงอนุภาคทองคำนาโน

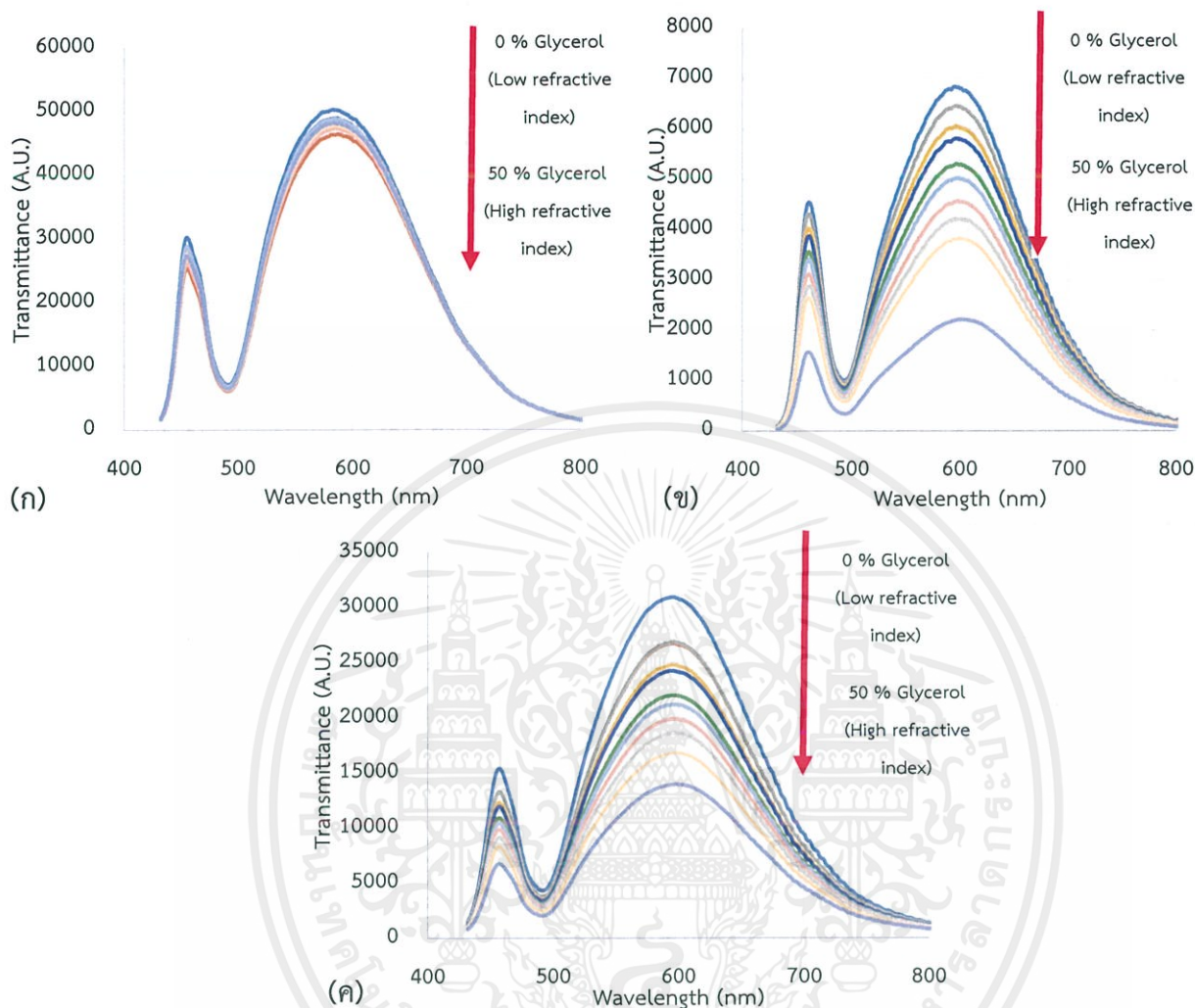
จะเห็นว่า เส้นไฟเบอร์ออฟติกที่มีการตรึงอนุภาคทองคำนาโนจะสังเกตเห็นว่ามีของแข็งสีเข้ม สีม่วงดำ ติดอยู่บริเวณ core ที่ลอกไว้เป็นจำนวนมาก ซึ่งแตกต่างกับเส้นที่ไม่ได้ตรึงอนุภาคทองคำนาโนที่จะสังเกตเห็นเป็นแก้วใสธรรมดาไม่มีอนุภาคหรือของแข็งใดๆ อยู่บนพื้นผิว



ภาพที่ 4.5 ภาพจาก Optical microscope แสดงพื้นผิว core ของfiber optic (ก) core ไม่มีการตรึงGNPs (ข) core ยาว 1 เซนติเมตร ที่มีการตรึง GNPs (ค) core ยาว 2 เซนติเมตรที่มีการตรึง GNPs

สังเกตว่าเมื่อมี GNPs ตรึงอยู่บนพื้นผิวของแกนกลางไฟเบอร์ออฟติก เมื่อนำไปส่องในกล้องจุลทรรศน์ (Optical microscope) จะพบอนุภาคบนเส้นไฟเบอร์ที่สะท้อนแสงออกมาเป็นสีทอง ซึ่งที่กลายเป็นสีทองนั้นเกิดจากการที่ GNPs เกิดการรวมตัวกันทำให้มีขนาดใหญ่ขึ้นทำให้เริ่มแสดงสมบัติเดิมของทองออกมา ในขณะที่เงื่อนไขควบคุมเป็นเส้นไฟเบอร์ที่ไม่ได้ตรึงอนุภาคทองคำนาโนจะไม่พบอนุภาคใดๆ ที่เปล่งแสงออกมา ซึ่งสามารถยืนยันได้ว่ามี GNPs ตรึงอยู่บนพื้นผิวแกนกลางของไฟเบอร์ออฟติก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.6 แสดงค่าการทะลุผ่าน (Transmittance : T) ของแสงเข้าสู่ตัวรับสัญญาณ (ก) core ที่ไม่มีการตรึงGNPs (ข) core ยาว 1 เซนติเมตร ที่มีการตรึง GNPs (ค) core ยาว 2 เซนติเมตร ที่มีการตรึง GNPs

จากภาพที่ 4.6 พบว่า ในเงื่อนไขที่ไม่มีการตรึงอนุภาคทองคำนาโน จะไม่สามารถสังเกตการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณที่ชัดเจน เมื่อค่าความเข้มข้นของกลีเซอรอลเพิ่มขึ้น ซึ่งหมายถึง ค่าดัชนีหักเหที่เพิ่มขึ้นตามไปด้วย ซึ่งในขณะเดียวกันในกรณี ที่มีการตรึง GNPs ลงบนพื้นผิวของแกนกลาง Fiber optic จะพบการลดลงของสัญญาณอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งที่ความยาว core 2 เซนติเมตร จะเกิดการเปลี่ยนแปลงมากกว่า core ความยาว 1 เซนติเมตรในระดับ 10 เท่า ซึ่งสามารถยืนยันได้ว่าปรากฏการณ์เกิดขึ้นและเกิดการเปลี่ยนแปลงตามทฤษฎีตามที่ได้กล่าวในบทที่ 2 เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีหักเห จะมีผลให้สัญญาณของ SPR เปลี่ยนแปลงไป ซึ่งส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สมบัติทางแสง นั่นคือ การทะลุผ่านของแสง (Transmittance : T) ที่ลดลงหรือมีการดูดกลืนแสงที่มากขึ้นเมื่อค่าดัชนีหักเหของสารเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังยืนยันถึงประสิทธิภาพของอนุภาคทองคำนาโนในการเพิ่มประสิทธิภาพของไบโอเซนเซอร์ให้เพิ่มสูงขึ้น

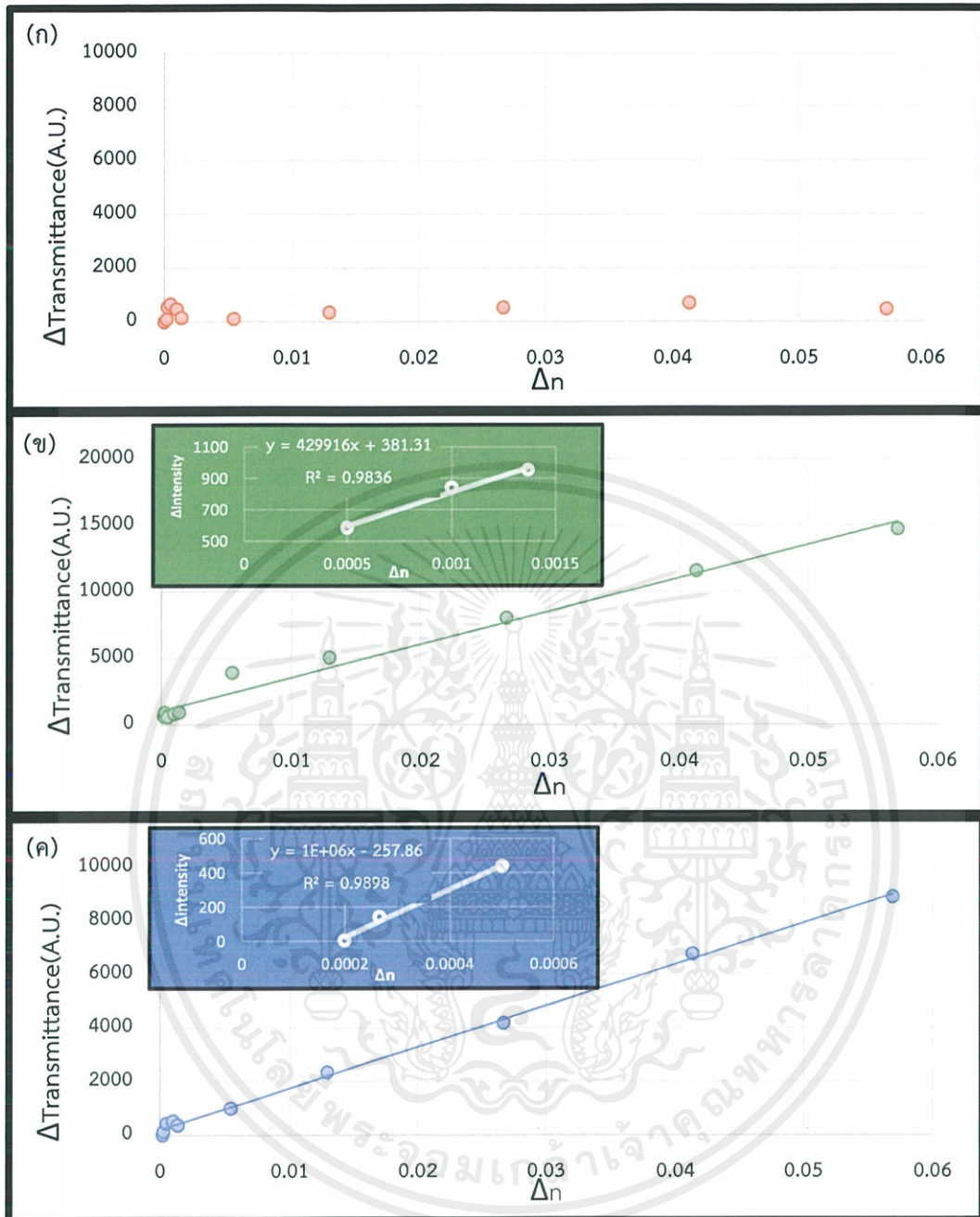
GNPs/FOB ทั้งสองเงื่อนไขรวมถึง FOB ที่เป็นเงื่อนไขเปรียบเทียบ การที่เป็นเช่นนี้ ผลของระยะการปกคลุมที่เพิ่มขึ้น แสดงถึงปริมาณของพื้นที่ผิวที่ GNPs สามารถไปยึดติดอยู่นั้นเพิ่มมากขึ้น นั่นคือปริมาณของ GNPs บน FO เพิ่มสูงขึ้นทำให้สัดส่วนพื้นที่ผิวต่อปริมาตรเพิ่มสูงขึ้นอย่างมาก ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสองอย่างหลักๆ คือ ปริมาณของอิเล็กตรอนบนพื้นผิว GNPs สูงขึ้นอย่างทวีคูณ และการที่สนามไฟฟ้าของ GNPs บนพื้นผิวมีความหนาแน่นสูงยิ่งขึ้น ถึงทั้งสอง เป็นการเปลี่ยนแปลงสำคัญที่มีผลโดยตรงต่อปริมาณการเกิดปรากฏการณ์ LSPR ที่เพิ่มมากขึ้น ซึ่งการเพิ่มขึ้นของ LSPR ส่งผลถึงการตอบสนองการเปลี่ยนแปลงของเซนเซอร์ที่เพิ่มสูงขึ้น โดยผลดังกล่าวถูกยืนยันด้วย ผลของการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณที่เกี่ยวข้องเนื่องกับผลของการเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีหักเห เมื่อเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของของกลีเซอรอล ดังตารางที่ 4.3

ในกราฟความสัมพันธ์ทั้งสองพบว่า มีการเปลี่ยนแปลงเชิงเส้นที่มีหลายความชัน ดังที่เห็นในภาพที่ 4.7 ในทุกๆ เงื่อนไขยกเว้นเงื่อนไขควบคุม (Control) ที่ไม่มีการเคลือบด้วย GNPs ดังภาพที่ 4.7(ก) ซึ่งไม่เห็นการเปลี่ยนแปลงอย่างเด่นชัดเมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของกลีเซอรอลในสารละลาย PBS ซึ่งในอีกสองเงื่อนไข (ข) และ (ค) จะมีค่าความชันสองช่วง คือ ช่วงการเปลี่ยนแปลงช่วง 0.1% -2% Glycerol แสดงเป็นภาพเล็กที่แสดงอยู่ในรูปกราฟ และ ช่วง 5%-50% Glycerol การพิจารณาและวิเคราะห์จะวิเคราะห์เฉพาะกราฟในช่วงแรก เนื่องจากการตอบสนองของเซนเซอร์นั้นมี การตอบสนองที่เด่นชัดกว่าในการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้น ซึ่งก็คือการเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีหักเหเพียงเล็กน้อย ดังนั้นจึงมีค่าความชันของกราฟที่สูง โดยค่านี้สามารถอ้างอิงถึงค่าการตอบสนองหรือ sensitivity ได้ ซึ่งพบว่า เมื่อเพิ่มระยะการปกคลุมไฟเบอร์ออปติก จาก 1 เซนติเมตร ภาพที่ 4.7 (ข) เป็น 2 เซนติเมตร ภาพที่ 4.7 (ค) จะมีค่า sensitivity เพิ่มขึ้นจาก 10^5 เป็น 10^6 A.U./RIU ในขณะเดียวกันความแปรของไฟเบอร์ออปติกก็จะเพิ่มสูงขึ้นด้วย ทำให้สามารถใช้งานเซนเซอร์ได้มากยิ่งขึ้น ดังนั้นในการวิจัยขั้นต่อไปจึงนำผลที่ได้ คือ ระยะการปกคลุม 2 เซนติเมตร ไปทำการศึกษารายละเอียดต่อไป

ตารางที่ 4.4 ค่าดัชนีหักเหและการเปลี่ยนแปลงของค่าดัชนีหักเหของสารละลายกลีเซอรอลใน PBS ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเทียบกับดัชนีหักเหของ PBS

ความเข้มข้นของกลีเซอรอลใน PBS (%)	ดัชนีหักเห	Δn
PBS	1.33497	0
0.1	1.33513	0.00017
0.2	1.33533	0.00037
0.5	1.33570	0.00073
1	1.33633	0.00137
2	1.33787	0.00290
5	1.34233	0.00737
10	1.34767	0.01270
20	1.36130	0.02633
30	1.37597	0.04100
50	1.39157	0.05660
กลีเซอรอล	1.47177	0.13680

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 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 กราฟคือการขยายให้เห็นการเปลี่ยนแปลงสัญญาณในช่วงต้นของค่าดัชนีหักเหของสาร

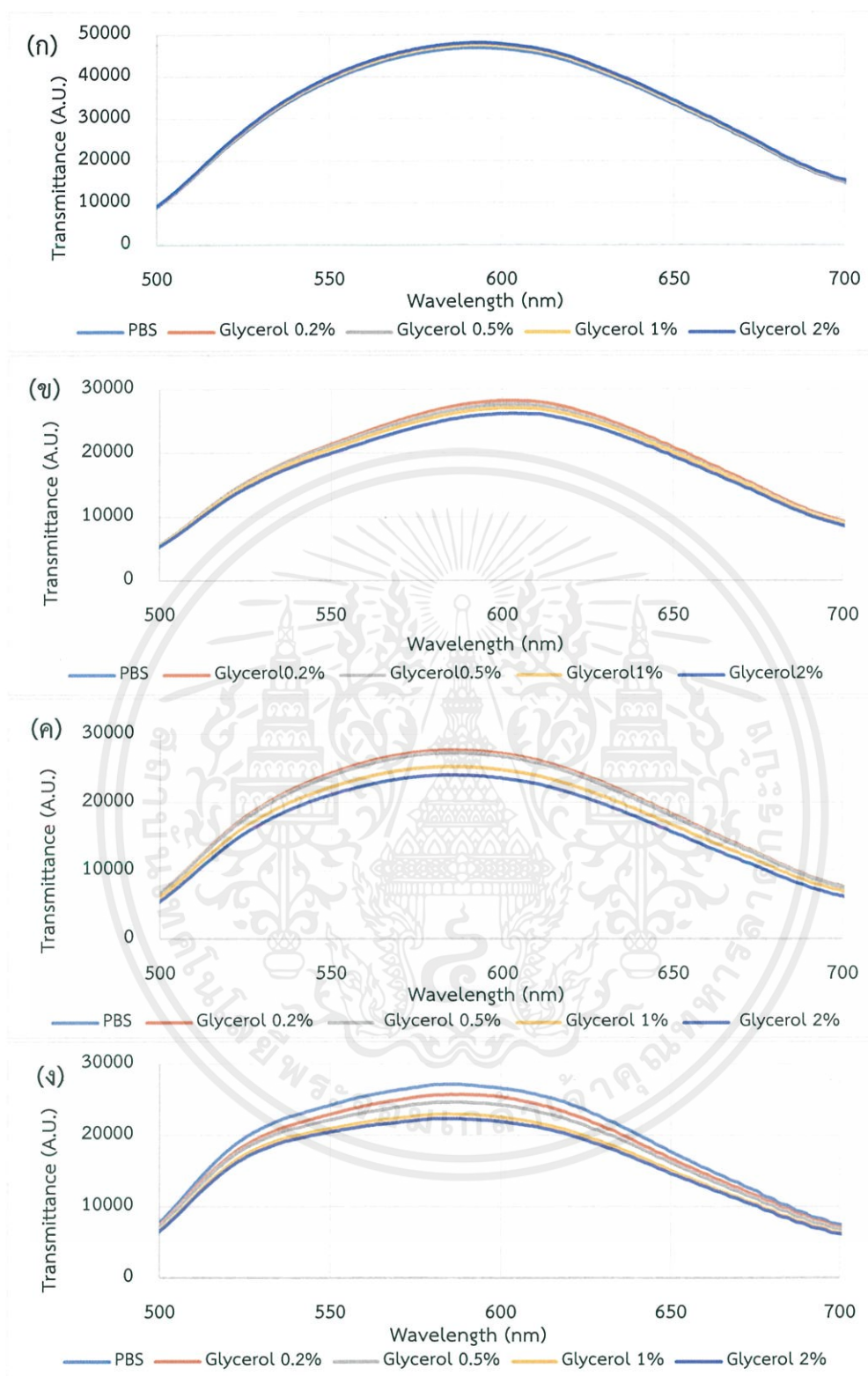
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 การทดสอบ sensitivity ของ GNP/FOB เมื่อเปลี่ยนแปลงขนาดของ GNPs ที่ใช้เป็นตัวขยายสัญญาณ (Amplifier)

ในการทดลองนี้ทดสอบ sensitivity ของ GNP/FOB ที่ใช้ GNPs ในการทดลอง 4.2 คือ GNPs ที่สังเคราะห์จากเงินไซ 1%TSC 1 1.8 และ 3 มิลลิเมตร ซึ่งทำให้เกิดขนาดของอนุภาคทองคำนาโนที่แตกต่างกัน และใช้ระยะเวลาการปลูกไฟเบอร์ออฟติกที่ 2 เซนติเมตร บริเวณตรงกลางของไฟเบอร์ออฟติก และทดสอบหา sensitivity โดยการทดสอบ ในสารละลายกลีเซอรอลใน PBS ความเข้มข้น 0.2% 0.5% 1% และ 2% เนื่องจากผลการทดลองที่ 4.3.1 และที่ไม่พิจารณาที่ความเข้มข้นที่ 0.1% เนื่องจากความต่างของสัญญาณที่ได้ นั่นคือการตรวจวัดในการทดลองที่ 4.3.1 มีค่าน้อยกว่าสามเท่าของสัญญาณรบกวน (Noise) นั่นคือ 150 A.U. มาก ทำให้ไม่สามารถวิเคราะห์แยกออกมาได้เป็นสัญญาณของข้อมูลหรือสัญญาณ Noise อย่างถูกต้อง และในการทดลองนี้ใช้เงินไซควบคุม (Control) เป็น FOB ที่ไม่มี GNPs จากการทดลองได้ผลดังนี้

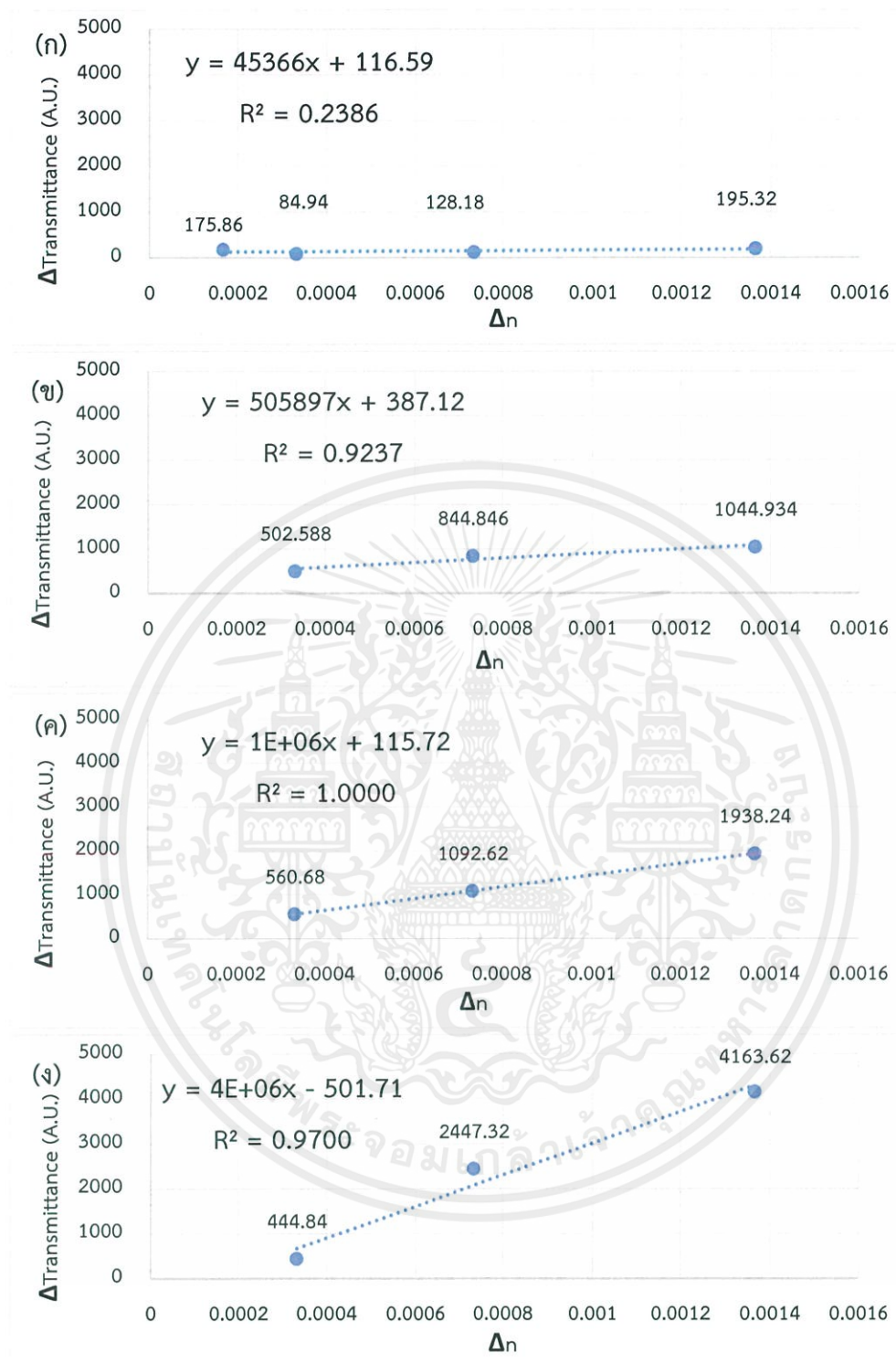
การเปลี่ยนแปลงค่าความเข้มแสงที่ทะลุผ่านเข้าสู่ตัวรับสัญญาณ ในเงินไซขนาด GNPs ต่างๆ พบว่า จะไม่พบการเปลี่ยนแปลงของค่าความเข้มแสงที่ชัดเจน ในขณะที่อีกทั้งสามเงินไซที่มีอนุภาคทองคำนาโน สามารถสังเกตการลดลงของระดับความเข้มแสงที่ชัดเจน แต่จะเกิดการเบนของกราฟที่แตกต่างกัน เนื่องจากขนาดของ GNPs ที่เปลี่ยนแปลงไป จะส่งผลถึงการเปลี่ยนแปลงการดูดกลืนแสงของอนุภาค ทำให้ขณะเดียวกันจึงเกิดการเบนของกราฟการทะลุผ่านของแสงที่เกิดขึ้น จึงสามารถบอกได้ว่า GNPs บน FOB มีการเปลี่ยนแปลงแสงทะลุผ่าน (ภาพที่ 4.8) เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีหักเหของพื้นผิว

โดยผลการทดลองข้างต้นสามารถอธิบายเพิ่มเติมและยืนยันได้จากผลการทดลองในภาพที่ 4.9 พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณ 1%TSC เป็น 1, 1.8 และ 3 มิลลิเมตร นั้นหมายถึงขนาดของอนุภาคทองคำนาโนที่มีขนาดเล็กลง แสดงออกถึงค่า sensitivity ที่เพิ่มสูงขึ้น เป็น 5×10^5 1×10^6 และ 4×10^6 A.U./RIU ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.5 ซึ่งเมื่อความเข้มข้นของสารละลายกลีเซอรอลในสารละลาย PBS เพิ่มขึ้นมากยิ่งขึ้น ค่าดัชนีหักเหจะเพิ่มขึ้น ทำให้เมื่อนำ GNP/FOB ไม่ตรวจวัดหา sensitivity มีการลดทอนของสัญญาณ เมื่อดัชนีหักเหมีค่าสูงขึ้น เกี่ยวเนื่องกับสมการที่ 3 ซึ่งแสดงออกถึงการเปลี่ยนแปลงของปรากฏการณ์ LSPR ที่เพิ่มขึ้น จากดัชนีหักเหที่เปลี่ยนแปลง (Δn) สูงมากขึ้น



ภาพที่ 4.8 ค่า Transmittance ของแสงที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีหักเห (ก) FOB และ GNP/FOB ที่เงื่อนไข (ข) 1 (ค) 1.8 และ (ง) 3 มิลลิลิตร ของ 1%TSC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.9 ค่าการเปลี่ยนแปลงค่า Transmittance ของแสงเมื่อเทียบกับค่าสัญญาณ Transmittance ของสารละลาย PBS ที่เมื่อเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีหักเห และค่า sensitivity (η) FOB และ GNPs/FOB ที่เงื่อนไข (ข) 1 (ค) 1.8 และ (ง) 3 มิลลิลิตร ของ 1%TSC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ค่า sensitivity และ R^2 ในแต่ละเงื่อนไขการทดลอง

เงื่อนไข GNPs/FOB	Sensitivity	R^2
Control	0	0
1 mL	5×10^5	0.9237
1.8 mL	1×10^6	1.0000
3 mL	4×10^6	0.9700

ตารางที่ 4.6 ค่า Transmittance ของแสงที่เงื่อนไขต่างๆ

ความเข้มข้นสารละลาย กลีเซอรอลในสารละลาย PBS(%)	ผลต่างค่า Transmittance ของแสง(A.U.) ใน เงื่อนไขต่างๆ เทียบกับ ค่า Transmittance ใน สารละลาย PBS 100%		
	1 mL	1.8mL	3mL
0	0	0	0
0.2	89.56	64.06	40.96
0.5	502.59	444.84	560.68
1	844.85	2447.32	1092.62
2	1044.93	4163.62	1938.24

การเปลี่ยนแปลงดัชนีหักเหที่กล่าวข้างต้น และผลการทดลองในภาพที่ 4.10 แสดงออกถึงความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงทางสัญญาณ ในรูปแบบสมการเส้นตรง ($y=mx+c$) เมื่อค่า m คือค่าความชัน หรือในอีกในหนึ่งนั่นคือ ค่า sensitivity ที่เพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดดังกล่าว ซึ่งจากค่า sensitivity ที่เพิ่มสูงขึ้นอย่างชัดเจน และมีการเปลี่ยนแปลงสอดคล้องกับสมการเส้นตรง ในช่วงการเปลี่ยนแปลงดัชนีหักเหช่วง 3.7×10^{-4} ถึง 2.9×10^{-3} นั่นคือ ตั้งแต่ช่วงความเข้มข้นของกลีเซอรอล 0.2% ถึง 2% เนื่องจากเมื่อความเข้มข้นที่สูงกว่า 2% แล้วค่าความสัมพันธ์จะเกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีหักเหที่ความเข้มข้น 0.2% นั้น ส่งผลให้เกิดเปลี่ยนแปลงของสัญญาณการตอบสนองที่น้อยกว่าค่าสามเท่าของสัญญาณรบกวน (Noise) นั่นคือ 150 A.U. (ตารางที่ 4.6) ทำให้การวัดการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณในสภาวะนี้ไม่สามารถชี้ชัดออกมาได้ชัดเจน ดังนั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จึงสามารถระบุได้ว่า GNPs/FOB สามารถมีการตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีหักเหที่ดีที่สุด ในช่วง 7.3×10^{-4} ถึง 2.9×10^{-3} นั่นคือในช่วงค่าความเข้มข้นของสารละลายกลีเซอรอลในสารละลาย PBS ในช่วง 0.5% 1% และ 2% ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงค่า sensitivity ที่เห็นได้ชัด และเมื่อสังเกตการเพิ่มขึ้นของ sensitivity อย่างมีนัยสำคัญ สืบเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงปริมาณ 1%TSC ในขั้นตอนการสังเคราะห์อนุภาคทองคำนาโน ซึ่งส่งผลถึงขนาดของอนุภาคทองคำนาโน ที่ลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณของ 1%TSC เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับทฤษฎี [50, 52, 54] ที่ว่าการเปลี่ยนแปลงความเข้มของสนามไฟฟ้ารวมของอนุภาคทองคำนาโน จะส่งผลถึงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณการตอบสนองทางแสงที่ได้จากปรากฏการณ์ LSPR กล่าวคือ เมื่อการค่าความเข้มของสนามไฟฟ้ารวมบนพื้นผิวสูงขึ้น จะสามารถเกิดการตอบสนองของสัญญาณเซนเซอร์ที่เด่นชัดมากขึ้น ซึ่งในกรณีนี้ความเข้มของสนามไฟฟ้ารวมบนพื้นผิวจะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นเนื่องจากอัตราส่วนของพื้นที่ผิวต่อปริมาตรของ GNPs บนพื้นผิวแสดงค่าเพิ่มขึ้น ทำให้ปริมาณอิเล็กตรอนบนพื้นผิวเพิ่มมากขึ้นซึ่งการเปลี่ยนแปลงการสั้นของอิเล็กตรอนบนพื้นผิวนี้ (Localized electrons) และทำให้ Mean free path (MFP) หรือระยะการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนก่อนจะกระทบกับสิ่งกีดขวางลดลง จะมีความเข้มสูงขึ้นทำให้แอมพลิจูดของคลื่นสัญญาณความถี่ไฟฟ้าบนพื้นผิวเข้มมากขึ้น เมื่อขนาดของอนุภาคทองคำมีขนาดเล็กลง ปริมาณอิเล็กตรอนบนพื้นผิว ทำให้การเปลี่ยนแปลงของความเข้มแสงที่ทะลุผ่านออกมาสังเกตได้เด่นชัดขึ้น

4.3.3 การทดสอบความสามารถในการวัดซ้ำและความเสถียรของ GNPs/FOB

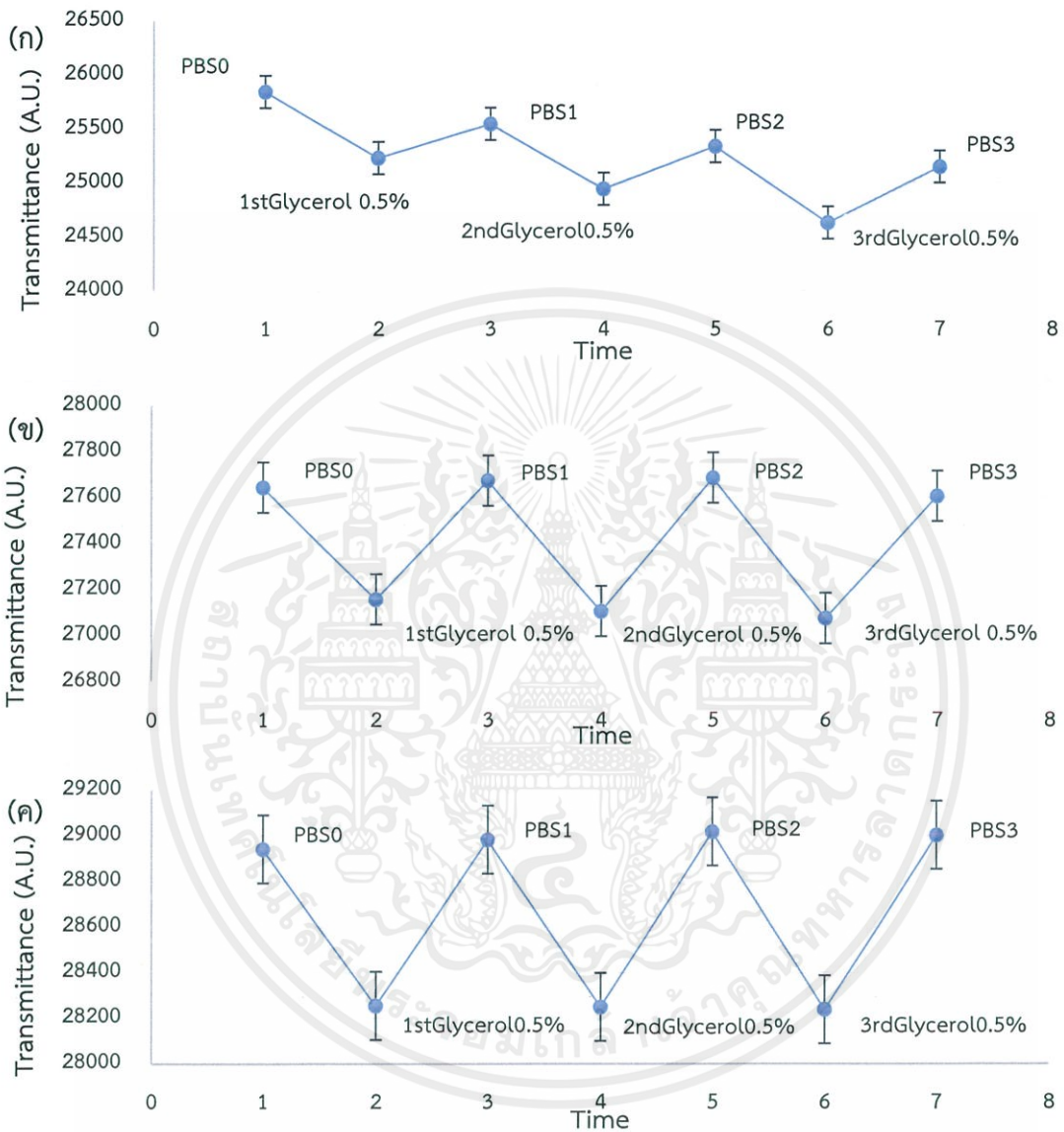
(Repeatability)

การทดสอบนี้มุ่งหมายในการทดสอบความสามารถในการเปลี่ยนแปลงไปกลับของ GNPs/FOB เมื่อเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีหักเหด้วยการทดสอบกับสารละลาย 0.5% กลีเซอรอล เนื่องจากจากการทดลองข้างต้นพบว่า มีการเปลี่ยนแปลงที่สัญญาณสูงกว่าค่าสามเท่าของค่าสัญญาณรบกวน คือ มีสัญญาณการเปลี่ยนแปลงอยู่ที่ประมาณ 450-600 A.U. (ตารางที่ 4.6) และเป็นความเข้มข้นน้อยที่สุดในช่วงที่เซนเซอร์สามารถตรวจวัดได้ดี คือ 0.5%-2%กลีเซอรอล ซึ่งจะทำการวัดสลับกับสารละลาย PBS

จากผลการวิจัยพบว่า ในภาพที่ 4.10 เซนเซอร์ทั้งหมดมีผลการวัดผลซ้ำที่ดีนั่นคือ สามารถมีการเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีหักเหได้อย่างรวดเร็ว จากการเปลี่ยนแปลงสารละลายในการทดสอบจากกลีเซอรอลเป็นสารละลาย PBS อย่างที่สังเกตได้ สัญญาณของกลีเซอรอลให้การเปลี่ยนแปลงที่เท่าๆ กัน ในแต่ละมีการเปลี่ยนแปลงสัญญาณที่เท่าๆ เดิมในแต่ละครั้งและสามารถเปลี่ยนแปลงกลับมาที่ตำแหน่งเดิมเมื่อเปลี่ยนสารละลายเป็น PBS เช่นกัน และมีค่าการเปลี่ยนแปลงของค่าความต่างของสัญญาณระหว่าง PBS กับ กลีเซอรอลในช่วงประมาณ 450-600 A.U. ยกเว้นในเงื่อนไขที่ใช้ GNPs/FOB และ 1% TSC ปริมาตร 1 ml นั่นคือ GNPs ที่มีขนาดใหญ่มากที่สุดในการทดลองที่จะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สังเกตเห็นการลดลงของสัญญาณ PBS ทุกครั้งในการวัด อาจเนื่องมาจากเซนเซอร์ GNP/FOB ไม่สามารถตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงสารบนพื้นผิวได้อย่างรวดเร็ว ซึ่งเกิดจากการวัดเซนเซอร์ ตัวอย่างเงื่อนไข 5 ครั้ง

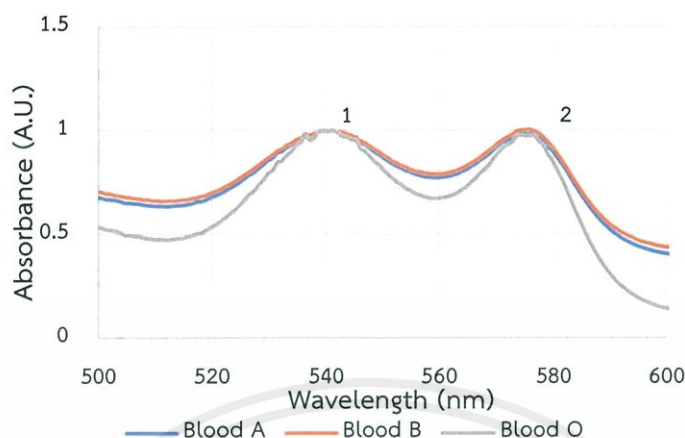


ภาพที่ 4.10 แสดงผลการทดสอบการวัดซ้ำของ GNPs/FOB ที่เงื่อนไข GNPs ที่ถูกสังเคราะห์โดย (ก) 1 (ข) 1.8 และ (ค) 3 มิลลิลิตรของ 1%TSC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ลักษณะและสมบัติการตรวจวัดของเซนเซอร์ Ab-A/GNPs/FOB

4.4.1 การทดสอบการดูดกลืนแสง (Absorbance) ของสารละลายตัวอย่างหมู่โลหิต ABO



ภาพที่ 4.11 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของหมู่โลหิต (สีฟ้า) A (สีส้ม) B (สีเทา) O

ตารางที่ 4.7 ความยาวคลื่นแสงที่ถูกโลหิตหมู่ต่างๆ ดูดกลืนมากที่สุด

ความยาวคลื่นแสงที่ถูกดูดกลืน	หมู่โลหิต			ค่าเฉลี่ย (nm)
	หมู่โลหิตA	หมู่โลหิตB	หมู่โลหิตO	
สูงที่สุดตำแหน่งที่1	541.27	541.27	541.27	541.27
สูงที่สุดตำแหน่งที่2	574.21	575.79	574.21	574.74±0.91

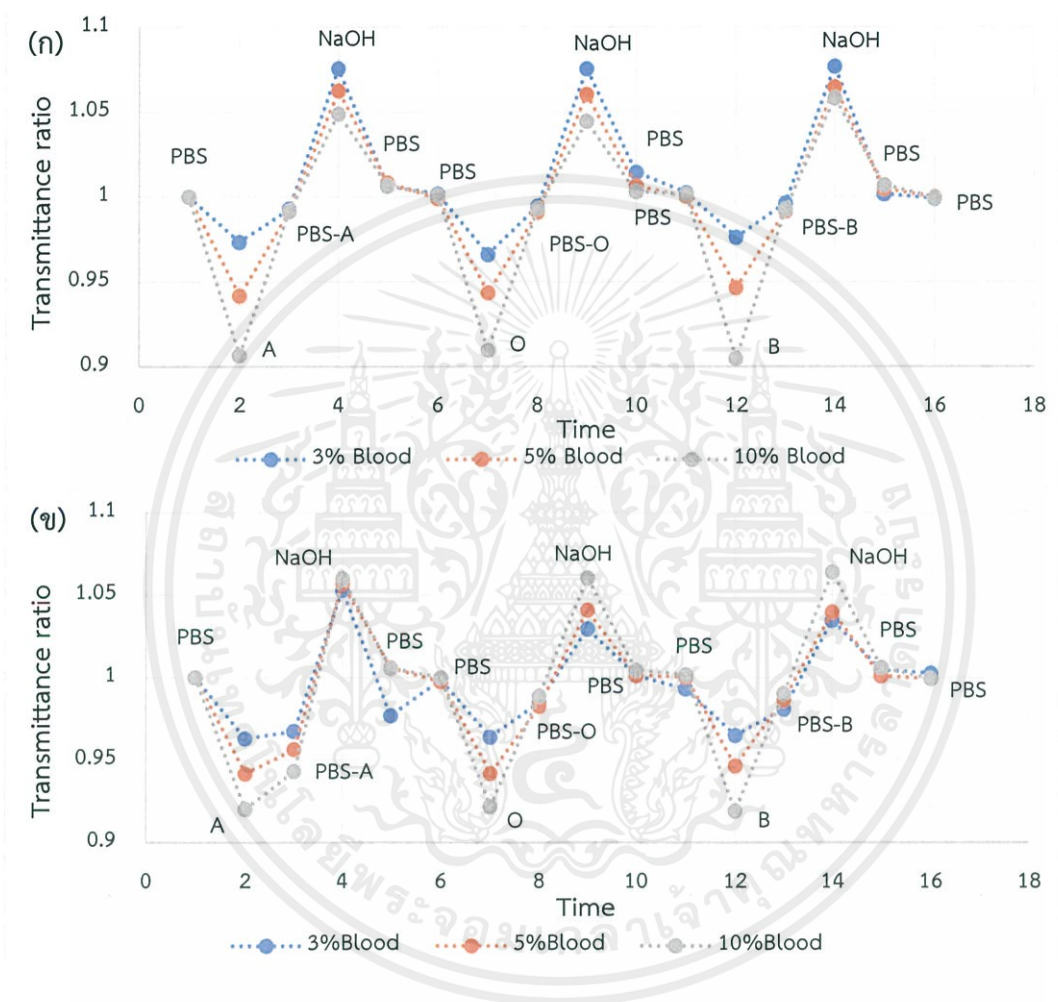
จากภาพที่ 4.11 และตารางที่ 4.7 แสดงออกถึงการดูดกลืนแสงของหมู่โลหิตต่างๆ ที่มีค่าความยาวคลื่นที่ถูกดูดกลืนสูงที่สุดใกล้เคียงกันสองบริเวณนั้นคือ 541.27 และ 574.74±0.91 นาโนเมตร แสดงให้เห็นว่า ถึงแม้แอนติเจนบนผิวของเม็ดเลือดทั้งสามชนิดนั้นจะแตกต่างกันออกไป แต่ความแตกต่างนี้ไม่ได้ส่งผลถึงสมบัติทางแสงของหมู่โลหิต และยังสามารถระบุได้ว่าการดูดกลืนแสงที่เกิดขึ้นนั้น จะขึ้นกับเม็ดโลหิตแดง และในความยาวคลื่นทั้งสองตำแหน่งนี้จะใช้ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางแสงของ Ab-A/GNPs/FOB เนื่องจากจะมีผลของการดูดกลืนแสงสูงสุดที่กระทำต่อสมบัติของ Ab-A/GNPs/FOB

4.4.2 การทดสอบ Ab-A/GNPs/FOB เมื่อทดสอบกับตัวอย่างโลหิตหมู่ ABO

การทดสอบ Ab-A/GNPs/FOB โดยใช้หมู่โลหิต A B และ O เพื่อหาความจำเพาะของเซนเซอร์

รวมถึงความสามารถในการวัดทางชีววิทยา จากที่ได้กล่าวข้างต้น การศึกษาตอนนี้จะสังเกตที่สองเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความยาวคลื่นที่ถูกโลหิตทั้งสามหมู่ดูดกลืนสูงที่สุด โดยการวัดจะเรียงลำดับ โดยหมู่โลหิต A B และ O และทำการล้างพื้นผิวเพื่อเอาเม็ดเลือดแดงออกด้วย 5mM NaOH จากนั้นตามด้วยสารละลาย PBS เพื่อใช้อ่านค่าสัญญาณเทียบกับตอนเริ่มต้นด้วย NaOH 5 มิลลิโมลาร์ และ สารละลาย PBS 2 ครั้ง ก่อนเปลี่ยนชนิดเลือด โดยจะทำการวัดผลทางแสงทุกๆ ขั้นตอนในการเปลี่ยนสาร ดังภาพที่ 4.12 โดยมีเงื่อนไขควบคุม (control) เป็น GNPs/FOB ไม่มี Ab-A อยู่ในระบบเซนเซอร์



ภาพที่ 4.12 ค่าสัดส่วน Transmittance เทียบกับ PBS เป็นตัวอ้างอิงในขั้นตอนการวัด Ag ของหมู่โลหิต A O และ B ตามลำดับ (ก) GNPs/FOB (control) (ข) Ab-A/GNPs/FOB

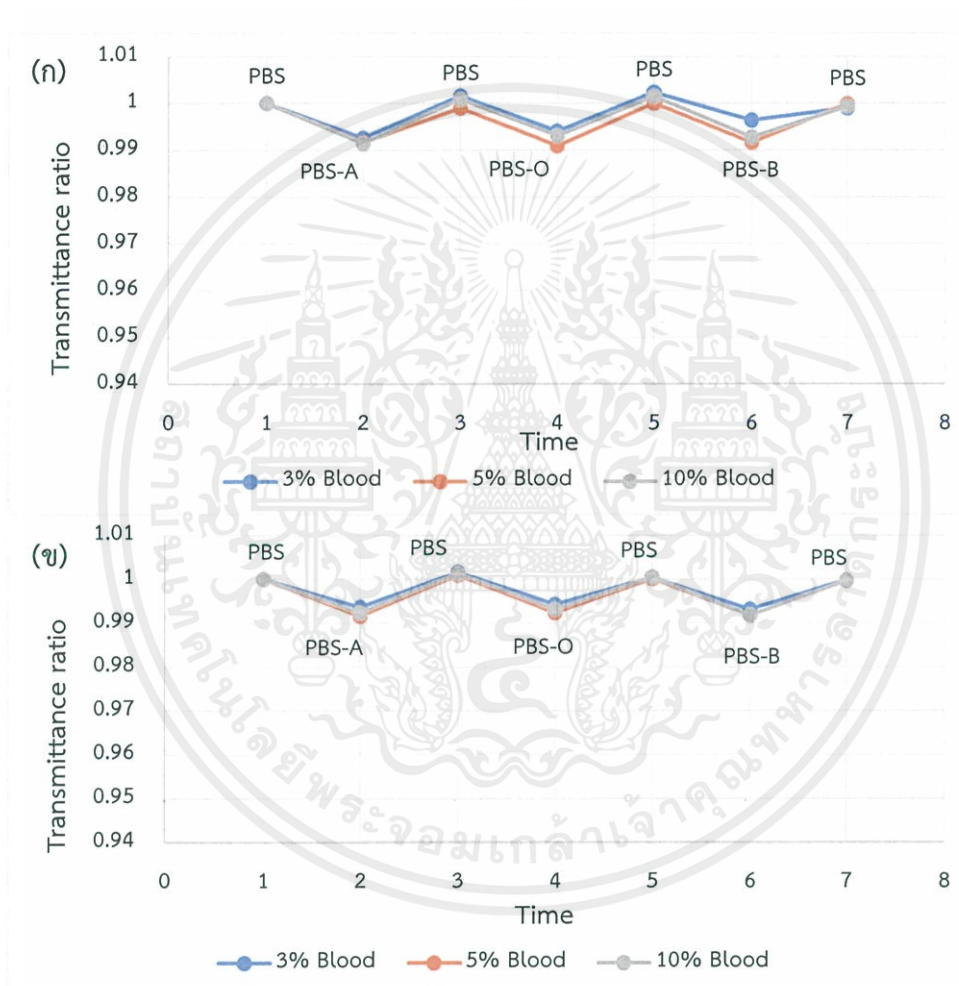
จากผลการทดลองพบว่า เมื่อตรวจวัดในสารละลายโลหิตทั้งสามชนิด ค่า Transmittance ratio ที่เกิดขึ้นจะมีค่าใกล้เคียงกันในทุกๆ หมู่โลหิต และเป็นเช่นนี้ทั้งสองเงื่อนไข เนื่องจากขณะที่ไฟเบอร์จุ่มในสารละลายเลือด จะมีความเข้มข้นมาก ทำให้สัญญาณที่เกิดขึ้นไม่ต่างกัน แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อมีการวัดสัญญาณหลังจากที่มีการล้างพื้นผิวด้วยสารละลาย PBS หลังจากวัดในสารละลายเลือด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

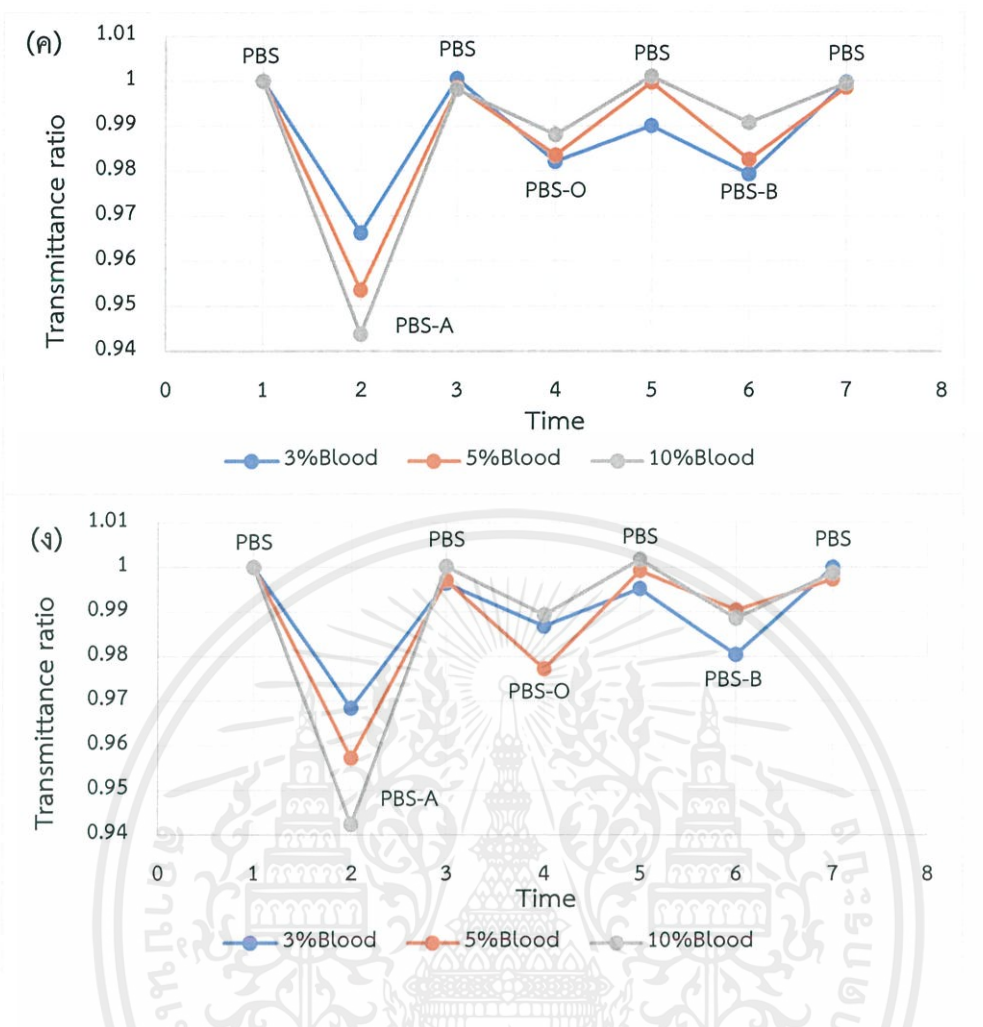
หมู่เอ (PBS-A) เพื่อชะล้างโมเลกุลเลือดที่ไม่เกาะกับ Ab-A บนพื้นผิวออก ซึ่งสัญญาณที่เกิดขึ้นตรงนี้จะ เป็นสัญญาณของการที่มีเซลล์เม็ดเลือดแดงมาติดบนพื้นผิวไฟเบอร์ ดังนั้นในการตรวจวัดสัญญาณ จะทำการเปรียบเทียบสัญญาณของสารละลาย PBS ก่อนและหลังจากการจุ่มในสารละลายเลือดที่ ตรวจวัด จากผลการทดลองพบว่าในเงื่อนไข control จะมีสัญญาณของ PBS ก่อน (PBS) และ PBS หลัง (PBS-A) จากการจุ่มสารละลายเลือดเอ มีค่าเท่าๆ กัน เมื่อมีการวัดในสารละลาย PBS หลังจาก หมู่โลหิต A (PBS-A) เพื่อขจัด Ag ที่ไม่เกิดปฏิกิริยากับ Ab-A บนพื้นผิว (Unbounded molecules) จะสังเกตว่า การเปลี่ยนแปลงของค่า Transmittance จะเกิดได้อย่างชัดเจนในเงื่อนไข control เกิด การเพิ่มขึ้นของสัญญาณมาก จนใกล้เคียงกับสัญญาณเริ่มต้น (PBS) ซึ่งเกิดขึ้นเช่นเดียวกันในการ ทดสอบกับหมู่โลหิต O และ B ขณะที่ Ab-A/GNPs/FOB แสดงความแตกต่างในสัญญาณที่เพิ่มขึ้น เล็กน้อย ในการทดสอบกับ หมู่โลหิต A ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ในเซนเซอร์ Ab-A/GNPs/FOB เกิดปฏิกิริยาของ Ab-A กับ Ag-A ยึดติดกันขึ้น ในทางกลับกันในการทดสอบกับหมู่โลหิต O และ B จะแสดงผลที่คล้ายคลึงกับ control ที่เกิดการเปลี่ยนแปลงสัญญาณหลังล้างด้วย PBS ในแต่ละครั้ง (PBS-O, PBS-B) กลับมาอยู่ในระดับที่ใกล้เคียงกับ PBS ก่อนหน้า ซึ่งแสดงถึงการไม่เกิดปฏิกิริยาของ เม็ดเลือด B และ O ในขณะที่เดียวกันในการเปลี่ยนแปลงของเงื่อนไข control ในการตรวจวัดหมู่โลหิต B และ O ให้ผลเช่นเดียวกับ Ab-A/GNPs/FOB และไปในทางเดียวกันในการตรวจวัดโลหิตหมู่ A ซึ่ง เป็นการยืนยันได้ว่า ผลการทดลองที่เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนขึ้นอยู่กับการมี Ab ที่สอดคล้อง กับชนิด Ag

โดยสัดส่วนการเปลี่ยนแปลงค่า %Transmittance มีความเกี่ยวเนื่องกับค่าความเข้มข้นของ โลหิตที่ตรวจวัด ในภาพที่ 4.13 สามารถสังเกตความแตกต่างอันเนื่องมาจากความเข้มข้นได้ เพื่อการ วิเคราะห์ที่ชัดเจน และสังเกตการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจนยิ่งขึ้น ในการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่า สัดส่วนการ Transmittance (Transmittance ratio) ระหว่าง การวัดในสารละลาย PBS เริ่มต้น เทียบกับ สารละลาย PBS ในการล้าง Unbounded molecules (PBS-A PBS-O และ PBS-B) ดัง ภาพที่ 4.13 ที่พบว่า ในเงื่อนไข (ก) control ที่ความยาวคลื่น 541.27 นาโนเมตรและ (ข) control ที่ความยาวคลื่น 574.74±0.91 นาโนเมตร ที่ทั้งสองความยาวคลื่นมีการเปลี่ยนแปลงของสัดส่วน เปลี่ยนแปลงน้อยกว่าร้อยละ 1 ในทุกๆ ความเข้มข้นและชนิดของตัวอย่างโลหิต และไม่บ่งบอกถึง ความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของโลหิตที่ใช้ ในขณะที่ในเงื่อนไข (ค) Ab-A/GNPs/FOB ที่ความยาว คลื่น 541.27 นาโนเมตร และ (ง) Ab-A/GNPs/FOB ที่ความยาวคลื่น 574.74±0.91 นาโนเมตร เมื่อ เทียบกับสัญญาณที่ PBS เริ่มต้น (Transmittance ratio=1) สามารถแสดงออกถึงประสิทธิภาพของ เซนเซอร์ จากสัดส่วนการเปลี่ยนแปลงมากกว่าร้อยละ 3 ร้อยละ 4.5 และร้อยละ 5.5 เมื่อตรวจวัด ตัวอย่างโลหิตหมู่ A ที่ความเข้มข้น 3% 5% และ 10% ในสารละลายบัฟเฟอร์ PBS ตามลำดับ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในขณะที่ในหมู่โลหิตอื่นๆ สัดส่วนในการเปลี่ยนแปลงมีค่าน้อยกว่าร้อยละ 2 ในทุกๆ ความเข้มข้น และแสดงถึงการเพิ่มหรือลดความเข้มข้นของตัวอย่างนั้น ไม่มีนัยสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณ ซึ่งผลการทดลองนี้สามารถยืนยันผลการทดลองที่อภิปรายก่อนหน้าได้ชัดเจนมากยิ่งขึ้น ซึ่งการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของค่า Transmittance ที่เกิดขึ้น ในการวัดหมู่โลหิต A เรียกว่า Specific binding signal ในทางกลับกันการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณในหมู่โลหิตอื่นๆ เรียกว่า Unspecific binding signal และสามารถระบุได้ว่าการเปลี่ยนแปลงของ สัดส่วนการ Transmittance ที่เกิดขึ้นที่ ทั้งสองความยาวคลื่นไม่เกิดความแตกต่างที่มีนัยสำคัญ

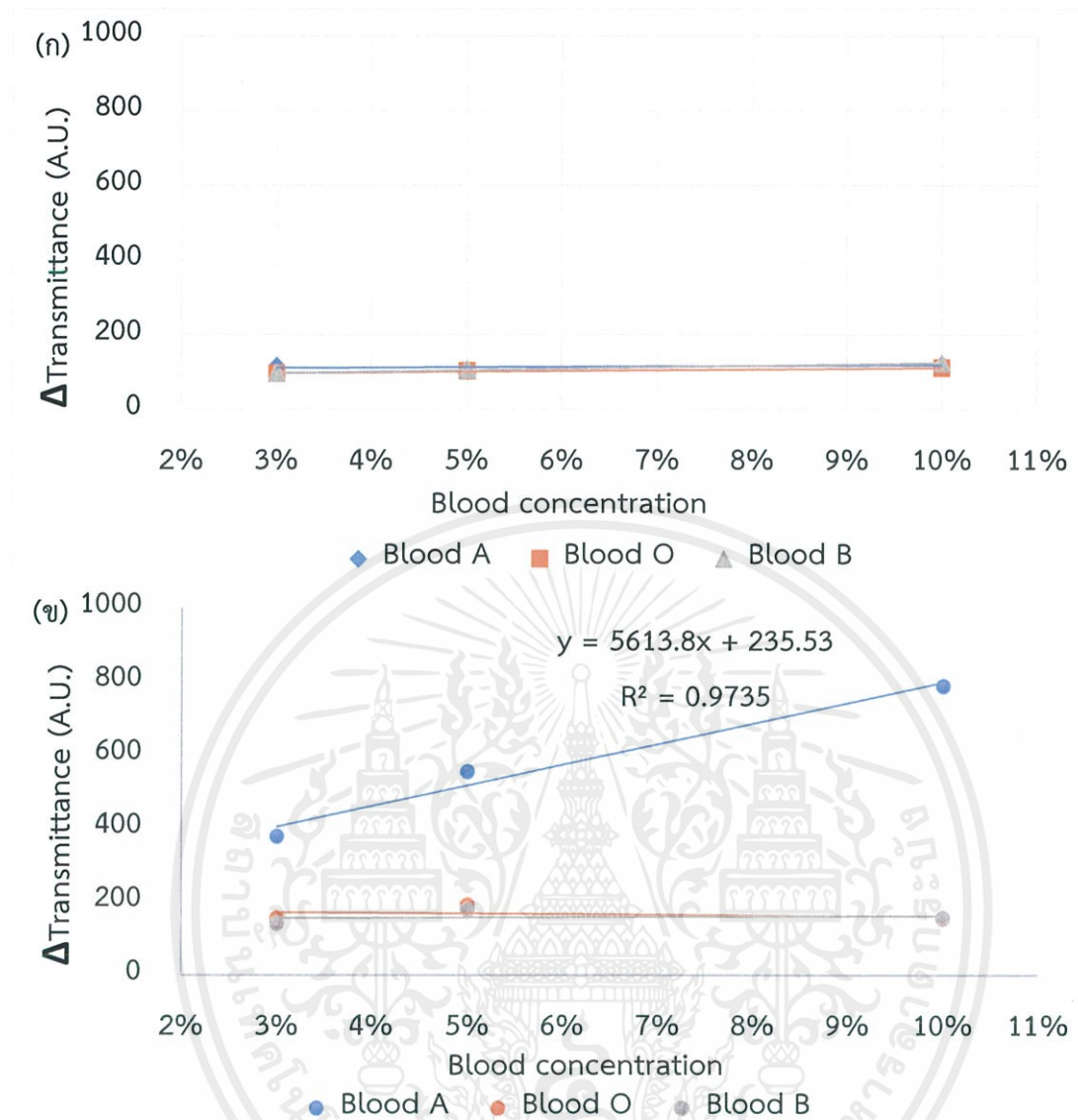


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.13 การเปลี่ยนแปลงค่า %Transmittance เปรียบเทียบ PBS ก่อนและหลังตรวจวัดในแต่ ละหมู่โลหิต (ก) GNPs/FOB ที่ความยาวคลื่น 541.27 นาโนเมตร (ข) GNPs/FOB ที่ ความยาวคลื่น 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 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

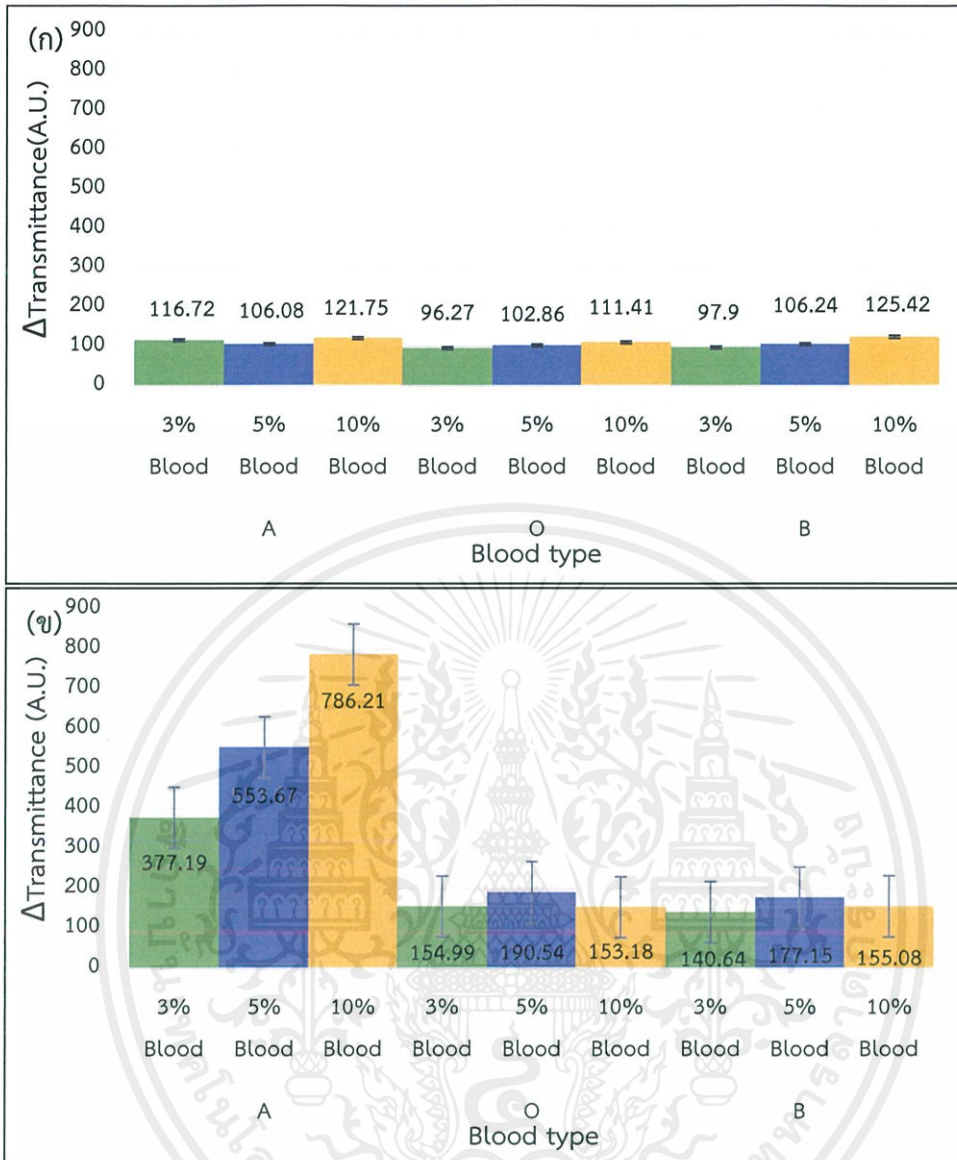


ภาพที่ 4.14 การตอบสนองของเซนเซอร์ต่อสารละลายตัวอย่างโลหิตต่างๆ ที่ความเข้มข้นต่างๆ (ก) GNP/FOB และ (ข) Ab-A/GNP/FOB

ในภาพที่ 4.14 พบว่า ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณที่ได้จากเซนเซอร์ GNP/FOB ไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างโลหิตทั้งสามชนิด ในขณะที่ Ab-A/GNP/FOB แสดงการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนเมื่อเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายโลหิตหมู่ A เท่านั้น แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงเมื่อทดสอบกับสารละลายโลหิตอีกสองชนิด ทั้งนี้สามารถระบุได้ว่า การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นมีความจำเพาะเจาะจงของเซนเซอร์ที่ดี และผลการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นเป็นผลจากการมี Antibody-A ในระบบ นั่นคือ จะเกิดการเปลี่ยนแปลงก็ต่อเมื่อเกิดปฏิกิริยาระหว่างคู่ Antigen-A และ Antibody-A เท่านั้น และการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวยังสัมพันธ์ต่อการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายอย่างเป็นเส้นตรงอีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการศึกษาสัญญาณที่เกิดขึ้นทั้ง specific binding signal และ unspecific binding signal ที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาของคู่ Ag-Ab ที่เข้าคู่กัน และไม่เข้าคู่กัน ตามลำดับ จากภาพที่ 4.15 แสดงการตอบสนองการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณความเข้มแสงที่ทะลุผ่าน (Transmittance) ที่แตกต่างกันของทั้งสองสัญญาณ เมื่อเปรียบเทียบค่า Transmittance ในสารละลาย PBS ก่อนตรวจวัด และ PBS หลังจากการล้าง unbounded molecules โดยมีเงื่อนไขควบคุมเป็น (ก) GNPs/FOB เช่นเดิม และ (ข) Ab-A/GNPs/FOB พบว่า ในเงื่อนไขควบคุม การเปลี่ยนแปลงของสัญญาณในการวัดโลหิตทั้งสามหมู่แสดงออกอยู่ในช่วงที่น้อยกว่าสัญญาณสามเท่าของสัญญาณรบกวน (150 A.U.) ทำให้พิจารณาการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนั้นเป็นสัญญาณรบกวนได้ (Noise) ในขณะที่ (ข) Ab-A/GNPs/FOB สามารถแสดงสมบัติการแยกสัญญาณ specific binding signal และ unspecific binding signal จากภาพจะพบว่า เมื่อตรวจวัดหมู่โลหิต A นั้น ค่าสัญญาณการเปลี่ยนแปลงความเข้มของแสงทะลุผ่านนั้นจะมากกว่า 3SD noise ประมาณ 2 เท่าและนอกจากนี้เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของตัวอย่างโลหิตในระบบการวัดเป็น 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 ในขณะที่ในการวัดหมู่โลหิต B และ O ซึ่งเป็น unspecific binding signal มีเปลี่ยนแปลงของความเข้มแสงที่ทะลุผ่านน้อยกว่าสามเท่าของสัญญาณรบกวน ซึ่งจากผลการทดลองในส่วนนี้สามารถระบุได้ว่า Ab-A/GNPs/FOB มีความจำเพาะเจาะจงอย่างมากในการตรวจวัดหมู่เลือดหมู่เอ และไม่มีการรบกวนของสัญญาณ unspecific binding ใดๆก็ตามการเพิ่มขึ้นของการเปลี่ยนแปลงสัญญาณแสงตามความเข้มข้นที่มากขึ้นนี้ จะเกิดการคงที่ได้เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโลหิตสูงขึ้นมากกว่า 10% เนื่องจากขอบเขตจำกัดจากปริมาณการเข้าคู่กันของคู่แอนติเจนและแอนติบอดี (Ag-A/Ab-A) ขึ้นอยู่กับปริมาณของแอนติบอดีบนพื้นผิว Ab-A/GNPs/FOB



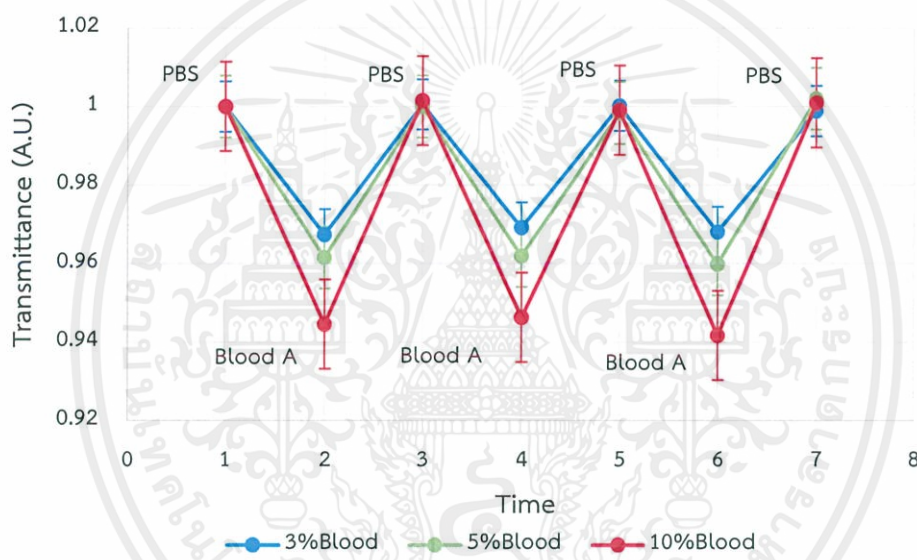
ภาพที่ 4.15 การเปลี่ยนแปลงค่าความเข้มของแสงที่ทะลุผ่านเมื่อตรวจวัดในหมู่เลือด ABO
(ก) Ab-A/GNPs/FOB (ข) GNPs/FOB

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.3 การทดสอบความสามารถในการวัดซ้ำและความเสถียรของ Ab-A/GNPs/FOB

(Repeatability and Stability)

การทดสอบการตรวจวัดซ้ำของเซนเซอร์โดยการวัดค่าการทะลุผ่านของแสงเปรียบเทียบกับสัญญาณของ PBS ก่อนและหลังการจุ่มในเลือดตัวอย่างหมู่เอทำการตรวจวัดค่าการทะลุผ่านของแสงเมื่อวัดใน PBS ก่อนและหลังตรวจวัดโลหิต A พบว่า Ab-A/GNPs/FOB มีสมบัติการวัดซ้ำที่ดีและสามารถวัดต่อเนื่องได้หลายรอบโดยสัญญาณไม่ลดลง โดยในภาพที่ 4.16 แสดงการวัดเลือดเอซ้ำ 3 รอบ ซึ่งเมื่อสังเกตค่าการทะลุผ่านของแสงที่ออกมาของ PBS หลังตรวจวัดโลหิตแล้ว กลับมาอยู่ที่ระดับที่ใกล้เคียงกับค่า Transmittance ของ PBS ก่อนหน้า นอกจากนี้เซนเซอร์ยังแสดงถึงความเสถียรของสัญญาณที่ได้ออกมาจากการวัดโลหิตหลายครั้ง ภาพที่ 4.16



ภาพที่ 4.16 การ Repeatability และ Stability ของ Ab-A/GNPs/FOB ที่ความเข้มข้นโลหิตหมู่ A (สีฟ้า)3% (สีเขียว)5% และ (สีแดง)10%

ในตารางที่ 4.8 แสดงถึงความเสถียรของเซนเซอร์ที่สามารถแสดงออกมาได้อย่างดีมาก วิเคราะห์ได้จากค่าการคลาดเคลื่อน (S.D) ของสัญญาณในแต่ละรอบการวัดที่มีค่าการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณ (Δ Transmittance) ที่อยู่ในระดับใกล้เคียงกัน มีค่าสูงสุดเพียงแค่ 16.39 A.U. ซึ่งเป็นค่าเบี่ยงเบนของสัญญาณที่ต่ำ และไม่มีนัยสำคัญใดๆ ต่อการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณ เนื่องจากอยู่ในช่วงสัญญาณของสัญญาณรบกวน (Noise) ที่ 50 A.U. และสัญญาณที่ได้ยังแสดงความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นอย่างมีนัยสำคัญทั้งสามครั้งการวัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 สัญญาณการเปลี่ยนแปลงของแสงที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่รอบการวัดทั้งสามรอบ

รอบที่	Δ Transmittance (A.U.)		
	3%BloodA	5%BloodA	10%BloodA
รอบที่ 1	377.19	541.12	766.21
รอบที่ 2	362.96	534.74	762.43
รอบที่ 3	371.39	542	792.52
ค่าเฉลี่ย	370.52 \pm 7.15	539.29 \pm 3.96	773.72 \pm 16.39



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการดำเนินงาน และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการดำเนินงานวิจัย

งานวิจัยนี้ทำการจัดตั้งระบบวัดเชิงแสงที่เป็นไฟเบอร์ออปติก ซึ่งมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับเครื่องมือมาตรฐาน UV-Visible light spectrometer และสามารถนำมาใช้ในการตรวจวัดทางไบโอเซนเซอร์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งเซนเซอร์ที่จัดทำขึ้นนั้นมีการเพิ่มประสิทธิภาพในด้านความไว (sensitivity) ด้วยการใช้อนุภาคทองคำนาโน (GNPs) ซึ่งสังเคราะห์ขึ้นด้วยกระบวนการ reduction method โดยการใช้ สารละลาย 0.01% HAuCl₄ 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 โดยใช้ APTES เป็น SAM ช่วยในการยึดติด GNPs กับซิลิกา ซึ่งทำให้ได้เป็นไฟเบอร์ออปติกที่เคลือบด้วยอนุภาคทองคำนาโน (GNPs/FOB) GNPs/FOB นำมาทดสอบการเปลี่ยนแปลงทางสมบัติของแสงเมื่อมีค่าดัชนีหักเหของชั้นไดอิเล็กทริกเปลี่ยนแปลง ซึ่งในขั้นนี้ถูกนำมาทดสอบกับสารละลายกลีเซอรอลความเข้มข้นต่างๆ ซึ่งมีค่าดัชนีหักเหของสารที่เพิ่มขึ้น ซึ่งสารละลายกลีเซอรอลในPBS แสดงสมบัติที่ดีในการที่ไม่ทำให้ GNPs เสียความเสถียรและเกิดการรวมตัวของอนุภาคขึ้น การทดสอบระยะของการปลอกไฟเบอร์ออปติกที่มีความยาว 2 เซนติเมตร ให้ค่า sensitivity มากกว่า ที่ความยาว 1 เซนติเมตร หนึ่งอันดับ และจากการทดสอบ sensitivity เพิ่มเติมพบว่า GNPs/FOB เมื่อใช้ความยาวการปลอกชั้น jacket และ cladding ที่ 2 เซนติเมตร สามารถตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นได้ดีในช่วง 0.5%-2% กลีเซอรอลใน PBS นั้นหมายถึงการเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีหักเหช่วง 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 พร้อมความสามารถในการวัดซ้ำได้ดีและนำไปสร้าง เป็น Ab-A/GNPs/FOB ซึ่งมีความสามารถในการตรวจวัด Ag-A จากหมู่โลหิต A ให้ค่าความต่างของสัญญาณการทะลุผ่าน อยู่ที่ 377.19 A.U. 553.67 A.U. และ 786.21 A.U. เมื่อความเข้มข้นของตัวอย่างโลหิต A เพิ่มขึ้น เป็น 3% 5% และ 10% และนอกจากนั้นเซนเซอร์นี้มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความจำเพาะเจาะจงในการตรวจวัดมาก เนื่องจากเกิดการเปลี่ยนแปลงสัญญาณเมื่อตรวจวัดกับหมู่โลหิต A เท่านั้น ซึ่งมีค่าสัญญาณเกิน 3 เท่าของSD noise (150 A.U.) และสามารถวัดซ้ำได้ดีในทุกความเข้มข้นของสารตัวอย่างเลือด

5.2 ข้อเสนอแนะและแนวทางการศึกษาต่อไป

ในการศึกษาเพิ่มเติมการเปลี่ยนแปลงระบบการตรวจวัดแสง อาจเปลี่ยนตัวแปรที่ตรวจวัดจากค่าการลดลงของความเข้มแสง เป็นการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงเฟสของคลื่น หรือการเปลี่ยนระนาบโพลาไรซ์ ในการพัฒนาและตรวจวัดสารชีวโมเลกุลชนิดอื่นที่ต้องการความแม่นยำมากขึ้นและมีประสิทธิภาพในการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงสัญญาณทางชีววิทยาที่ค่อนข้างต่ำ เช่น การตรวจวัดในระดับดีเอ็นเอ หรือ ยีน

สำหรับการศึกษาเพิ่มเติมในแง่ของกลไกของปรากฏการณ์ LSPR นั้น การศึกษาผ่านด้วยระเบียบวิธีการจำลองเชิงคอมพิวเตอร์ เป็นเครื่องมือที่เหมาะสมในการทำให้เกิดความเข้าใจกลไกและการเปลี่ยนแปลงบนพื้นผิวของบริเวณที่ตรวจวัดเพิ่มมากยิ่งขึ้น

ในการพัฒนา GNPs/FOB ในอนาคต การออกแบบโครงสร้างของระบบบริเวณตัวเซนเซอร์ในภาพแบบที่เป็นชิพขนาดเล็กมีความสามารถในการสะท้อนกลับหมดของแสง และเคลือบด้วยตัวรับสัญญาณทางชีวภาพ และลดขนาดระบบการตรวจวัดทางแสง เพื่อทำเป็นเครื่องมือในการตรวจวัดทางชีววิทยาและการแพทย์แบบพกพาในอนาคต

บรรณานุกรม

- [1]. Organization, W.H. *Influenza virus infections in humans* February 2014; Available from: http://www.who.int/influenza/human_animal_interface/virology_laboratories_and_vaccines/influenza_virus_infections_humans_feb14.pdf?ua=1
- [2]. Society, A.c. *How is cancer diagnosed* March 2015; Available from: <http://www.cancer.org/treatment/understandingyourdiagnosis/examsandtestdescriptions/testingbiopsyandcytologyspecimensforcancer/testing-biopsy-and-cytology-specimens-for-cancer-how-is-cancer-diagnosed>.
- [3]. NHS. *Blood tests : Common examples*. March 2014; Available from: <http://www.nhs.uk/Conditions/Blood-tests/Pages/What-it-is-used-for.aspx>.
- [4]. Eggins, B.R., *Chemical sensors and biosensors*. Vol. 28. 2008: John Wiley & Sons.
- [5]. Turner, A., I. Karube, and G.S. Wilson, *Biosensors: fundamentals and applications*. 1987.
- [6]. Pijanowska, D.G. and W. Torbicz, *pH-ISFET based urea biosensor*. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 1997. **44**(1): p. 370-376.
- [7]. Newman, J.D. and A.P. Turner, *Home blood glucose biosensors: a commercial perspective*. *Biosensors and Bioelectronics*, 2005. **20**(12): p. 2435-2453.
- [8]. Ligler, F.S. and C.A.R. Taitt, *Optical biosensors: present and future*. 2002: Gulf Professional Publishing.
- [9]. Zhou, C., et al., *A compact fiber-optic immunosensor for Salmonella based on evanescent wave excitation*. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 1997. **42**(3): p. 169-175.
- [10]. Pufahl, R.A., et al., *Development of a fluorescence-based enzyme assay of human 5-lipoxygenase*. *Analytical biochemistry*, 2007. **364**(2): p. 204-212.
- [11]. Thompson, R.B., et al., *Fiber optic biosensor for Co (II) and Cu (II) based on fluorescence energy transfer with an enzyme transducer*. *Biosensors and Bioelectronics*, 1996. **11**(6): p. 557-564.
- [12]. Engström, H.A., P.O. Andersson, and S. Ohlson, *A label-free continuous total-internal-reflection-fluorescence-based immunosensor*. *Analytical biochemistry*, 2006. **357**(2): p. 159-166.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- [13]. Thompson, R.B. and E.R. Jones, *Enzyme-based fiber optic zinc biosensor*. Analytical Chemistry, 1993. **65**(6): p. 730-734.
- [14]. Usha, S.P., S.K. Mishra, and B.D. Gupta, *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**: p. 196-204.
- [15]. Luo, J., et al., *A silver nanoparticle-modified evanescent field optical fiber sensor for methylene blue detection*. Sensors, 2013. **13**(3): p. 3986-3997.
- [16]. Li, K., et al., *Gold nanoparticle amplified optical microfiber evanescent wave absorption biosensor for cancer biomarker detection in serum*. Talanta, 2014. **120**: p. 419-424.
- [17]. Huang, X., S. Neretina, and M.A. El-Sayed, *Gold nanorods: from synthesis and properties to biological and biomedical applications*. Advanced Materials, 2009. **21**(48): p. 4880.
- [18]. Cao, J., T. Sun, and K.T. Grattan, *Gold nanorod-based localized surface plasmon resonance biosensors: A review*. Sensors and Actuators B: Chemical, 2014. **195**: p. 332-351.
- [19]. Cao, X., Y. Ye, and S. Liu, *Gold nanoparticle-based signal amplification for biosensing*. Analytical biochemistry, 2011. **417**(1): p. 1-16.
- [20]. Sai, V., T. Kundu, and S. Mukherji, *Novel U-bent fiber optic probe for localized surface plasmon resonance based biosensor*. Biosensors and Bioelectronics, 2009. **24**(9): p. 2804-2809.
- [21]. Storhoff, J.J., et al., *One-pot colorimetric differentiation of polynucleotides with single base imperfections using gold nanoparticle probes*. Journal of the American Chemical Society, 1998. **120**(9): p. 1959-1964.
- [22]. Mitsui, K., Y. Handa, and K. Kajikawa, *Optical fiber affinity biosensor based on localized surface plasmon resonance*. Applied Physics Letters, 2004. **85**(18): p. 4231-4233.
- [23]. Hsieh, B.-Y., et al., *Localized surface plasmon coupled fluorescence fiber-optic biosensor with gold nanoparticles*. Analytical chemistry, 2007. **79**(9): p. 3487-3493.

- [24]. Hughes, A., et al., *Fiberoptic nanobiosensor: A quantitative calibration method*, in *2013 Microsystems for Measurement and Instrumentation: Fulfilling the Promise (MAMNA)*. 2013.
- [25]. Lin, H.-Y., et al., *Direct detection of orchid viruses using nanorod-based fiber optic particle plasmon resonance immunosensor*. *Biosensors and Bioelectronics*, 2014. **51**: p. 371-378.
- [26]. Lepinay, S., et al., *Improved detection limits of protein optical fiber biosensors coated with gold nanoparticles*. *Biosensors and Bioelectronics*, 2014. **52**: p. 337-344.
- [27]. Cao, J., et al., *Wavelength-based localized surface plasmon resonance optical fiber biosensor*. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2013. **181**: p. 611-619.
- [28]. Petryayeva, E. and U.J. Krull, *Localized surface plasmon resonance: Nanostructures, bioassays and biosensing—A review*. *Analytica chimica acta*, 2011. **706**(1): p. 8-24.
- [29]. Xu, J., et al., *A gold nanoparticle-based fluorescence sensor for high sensitive and selective detection of thiols in living cells*. *Biosensors and Bioelectronics*, 2016. **75**: p. 1-7.
- [30]. Mayer, K.M., et al., *A label-free immunoassay based upon localized surface plasmon resonance of gold nanorods*. *Acs Nano*, 2008. **2**(4): p. 687-692.
- [31]. Wang, X.-D. and O.S. Wolfbeis, *Fiber-optic chemical sensors and biosensors (2008–2012)*. *Analytical chemistry*, 2012. **85**(2): p. 487-508.
- [32]. Vidotti, M., et al., *Biosensors based on gold nanostructures*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 2011. **22**(1): p. 3-20.
- [33]. Dancil, K.-P.S., D.P. Greiner, and M.J. Sailor, *A porous silicon optical biosensor: detection of reversible binding of IgG to a protein A-modified surface*. *Journal of the American Chemical Society*, 1999. **121**(34): p. 7925-7930.
- [34]. Hong, W., et al., *Preparation of gold nanoparticle/graphene composites with controlled weight contents and their application in biosensors*. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2010. **114**(4): p. 1822-1826.
- [35]. Xiaa, F., *PNAS*, June 15, 2010. **107**(24): p. 10837–10841.
- [36]. Dostalek, J., *NANOTECHNOLOGIES: OPTICAL BIOSENSORS*. AIT-Austrian Institute of Technology GmbH Biosensor Technologies Unit.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- [37]. Brown, J.J.C.J.M., *Introduction to Biomedical Equipment Technology*. 1998.
- [38]. Ellis, D.D.C.S.J., *Stats Tutorial - Instrumental Analysis and Calibration*. 2008, Department of Chemistry, University of Toronto.
- [39]. Armbruster, D.A. and T. Pry, *Limit of blank, limit of detection and limit of quantitation*. Clin Biochem Rev, 2008. **29**(1): p. 549-52.
- [40]. Carr, J.J., *Sensors and Circuits*. Prentice Hall.
- [41]. Leung, A., P.M. Shankar, and R. Mutharasan, *A review of fiber-optic biosensors*. Sensors and Actuators B: Chemical, 2007. **125**(2): p. 688-703.
- [42]. McCartney, E.J., *Optics of the atmosphere: scattering by molecules and particles*. New York, John Wiley and Sons, Inc., 1976. 421 p., 1976. **1**.
- [43]. Dorfman, A., N. Kumar, and J.-i. Hahm, *Highly sensitive biomolecular fluorescence detection using nanoscale ZnO platforms*. Langmuir, 2006. **22**(11): p. 4890-4895.
- [44]. Chau, L.-K., et al., *Fiber-optic chemical and biochemical probes based on localized surface plasmon resonance*. Sensors and Actuators B: Chemical, 2006. **113**(1): p. 100-105.
- [45]. Long, F., et al., *Development of evanescent wave all-fiber immunosensor for environmental water analysis*. Biosensors and Bioelectronics, 2008. **23**(7): p. 952-958.
- [46]. Hsu, W.-T., et al., *Integration of fiber optic-particle plasmon resonance biosensor with microfluidic chip*. Analytica chimica acta, 2011. **697**(1): p. 75-82.
- [47]. 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.
- [48]. Chandradoss, S.D., et al., *Surface passivation for single-molecule protein studies*. Journal of visualized experiments: JoVE, 2014(86).
- [49]. W.C. Law, K.T. Yong, et al., *Sensitivity Improved Surface Plasmon Resonance Biosensor for Cancer Biomarker Detection Based on Plasmonic Enhancement*. ACS Nano, 2011. **5**(6): p. 4858-4864.
- [50]. W.C. Law, K.T. Yong, et al., *Nanoparticle enhanced surface plasmon resonance biosensing: Application of gold nanorods*. OPTICS EXPRESS, 2009. **17**(21): p. 19041-19046.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- [51]. Dr. F F.M., AL-K, et al., *A Simple Method for Synthesis, Purification and concentration Stabilized Goldnanoparticles*. Journal of Engineering Research and Applications, 2013. **3**(6): p. 21-30.
- [52]. S.A. Maier, M.L. Brongersma, et al., *Observation of near-field coupling in metal nanoparticle chains using far-field polarization spectroscopy*. The American Physical Society (PHYSICAL REVIEW B), 2002. **65**(193408): p. 1-4.
- [53]. S. Link, M.A. El-Sayed, *Size and Temperature Dependence of the Plasmon Absorption of Colloidal Gold Nanoparticles*. ACS Physics, 1999. **103**: p. 4212-4217
- [54]. H. Chen, X. Kou, et al., *Shape- and Size-Dependent Refractive Index Sensitivity of Gold Nanoparticles*. Langmuir, 2008. **24**(10): p. 5233-5237.



ภาคผนวก

1) โปรแกรมควบคุมแหล่งกำเนิดแสง



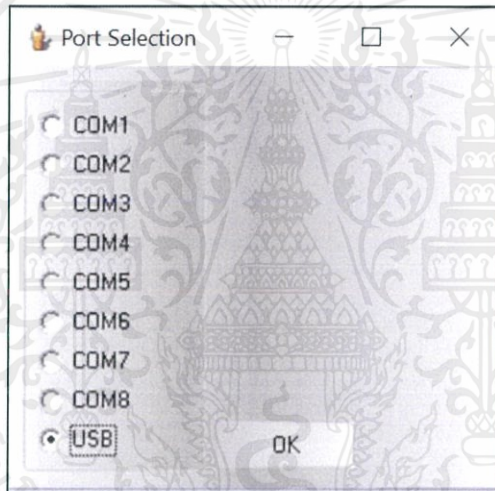
LEDDriver.exe

ชื่อโปรแกรม LEDDriver.exe เวอร์ชัน 2.3.3 มาพร้อมกับ

แหล่งกำเนิดแสง Mightex

วิธีการใช้โปรแกรมควบคุมแหล่งกำเนิดแสง

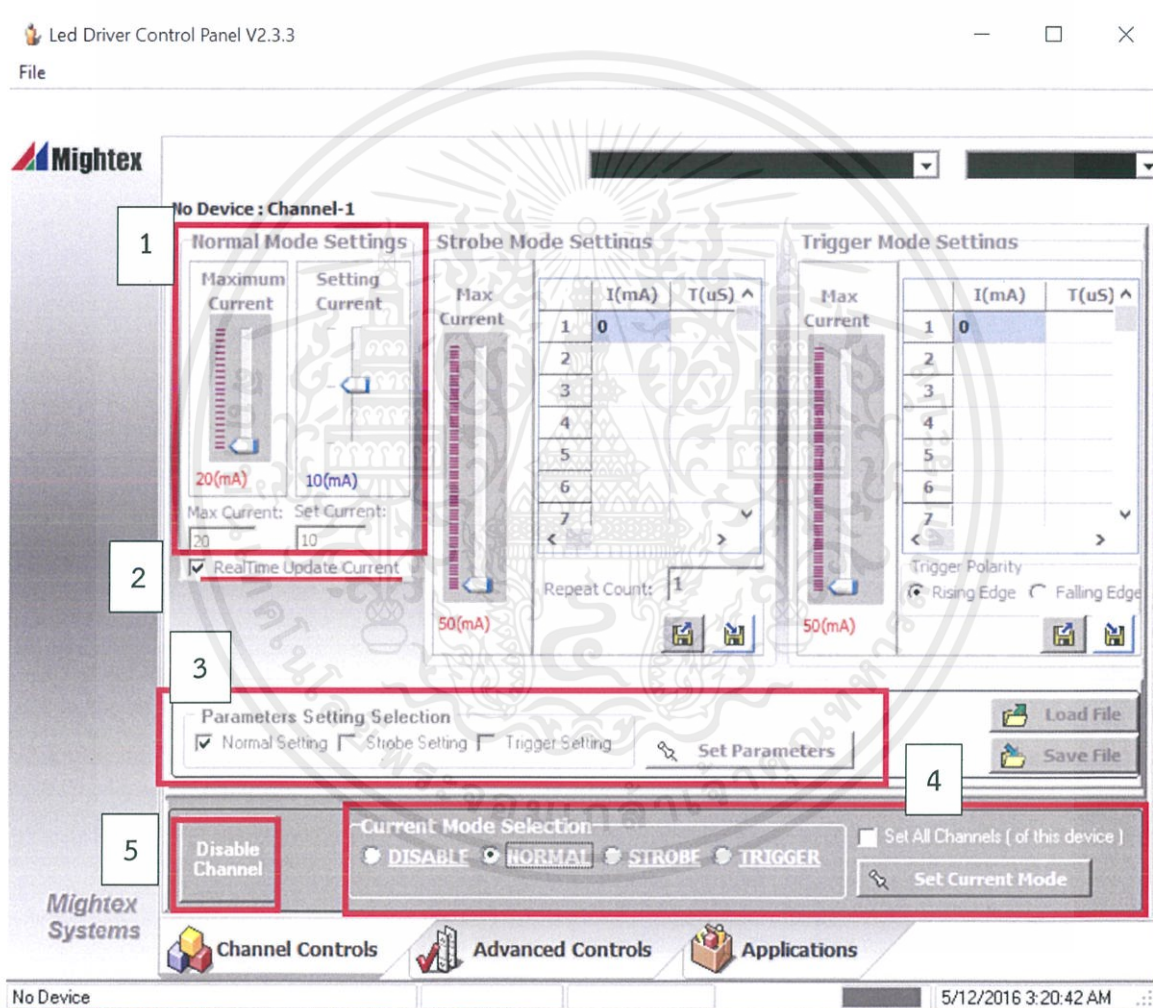
ก่อนเริ่มโปรแกรมติดตั้งแหล่งกำเนิดแสงให้เรียบร้อย นำสาย USB ต่อเข้ากับเครื่องคอมพิวเตอร์ หลังจากเข้าโปรแกรมแล้วเลือกพอร์ตการใช้งานที่ USB เลือกพอร์ต USB แล้วเลือก OK



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพลักษณะของโปรแกรม องค์ประกอบและการตั้งค่าแหล่งกำเนิดแสง

ตั้งค่าการวัดใน normal mode และควบคุมความเข้มแสงที่เกิดขึ้นด้วยการปรับเพิ่มลดค่ากระแสที่ให้งดหมายเลข 1 และเช็คเครื่องหมายถูกในกล่องที่ Realtime update current ดังหมายเลข 2 ซึ่งจะทำให้การเปลี่ยนแปลงความเข้มแสงที่แหล่งกำเนิดแสงทันทีเมื่อเปลี่ยนแปลงค่ากระแสควบคุม หมายเลข 3 Parameters setting selection เลือก normal setting และเลือก set parameters หมายเลข 4 เลือก normal และ set current mode ซึ่งเมื่อใช้งานเรียบร้อยแล้ว เลือก disable channel ในหมายเลข 5 และปิดโปรแกรม จึงถอดสาย USB กับคอมพิวเตอร์ออกจากกันได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) โปรแกรมในการตรวจวัดแสง (Spectrometer)



โปรแกรม SpecEvaluation ของบริษัท Hamamatsu

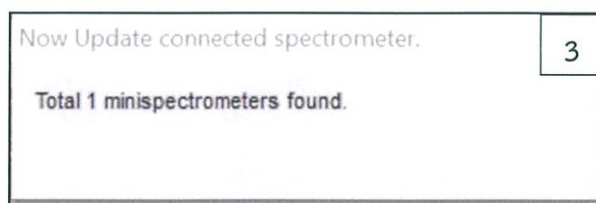
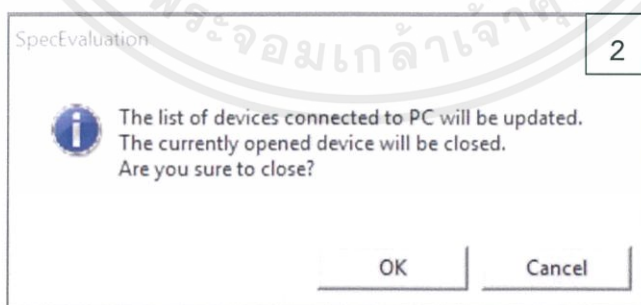
spectroscopy

วิธีการใช้โปรแกรมควบคุมเครื่องตรวจวัดทางแสง

ก่อนเริ่มโปรแกรมติดตั้งเครื่องมือวัดทางแสงให้เรียบร้อย นำสาย USB ต่อเข้ากับเครื่องคอมพิวเตอร์ จึงเปิดโปรแกรม ภาพลักษณะของโปรแกรม และองค์ประกอบของโปรแกรม

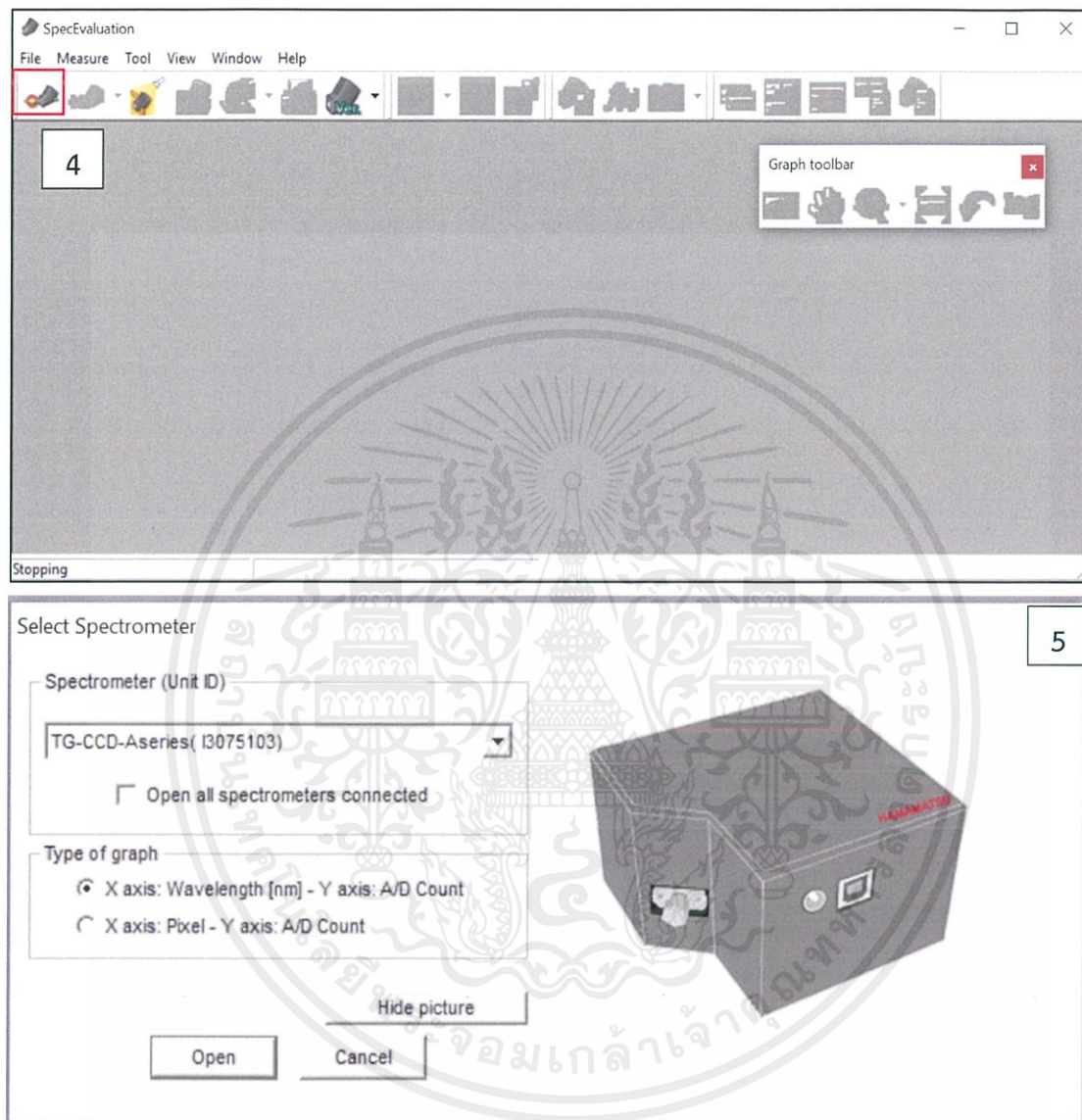


เลือกตามหมายเลข 1 Update List Spectrometer จะพบหน้าต่างดังหมายเลข 2 เลือก OK เปลี่ยนเป็นหน้าต่างหมายเลข 3 แสดงจำนวน Spectrometer ที่เชื่อมต่อกับเครื่องคอมพิวเตอร์

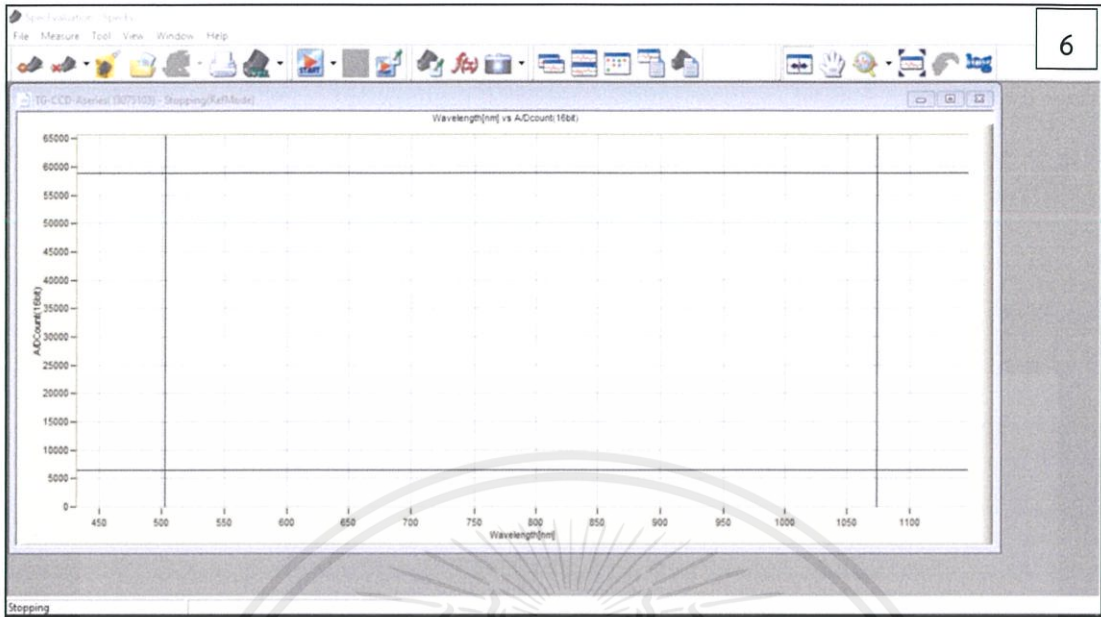


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เลือกตามหมายเลข 4 Open spectrometer จะพบหน้าต่างหมายเลข 5 เลือกชื่อของอุปกรณ์ Spectrometer และเลือกชนิดแกนของกราฟ เลือก Open โปรแกรมจะเป็นดังภาพหมายเลข 6

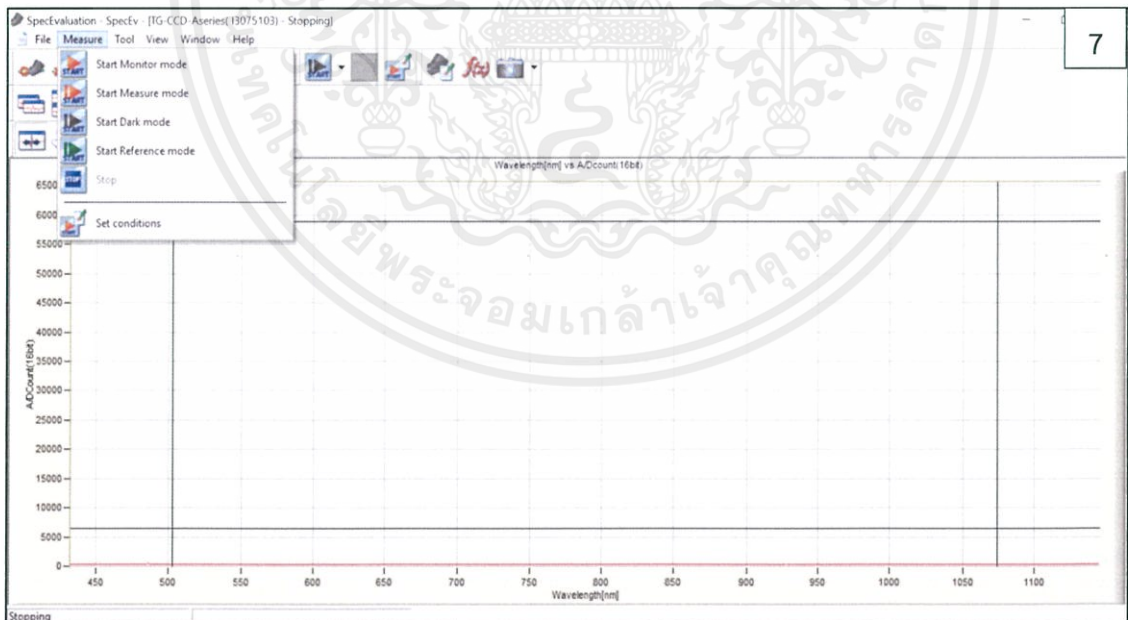


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



6

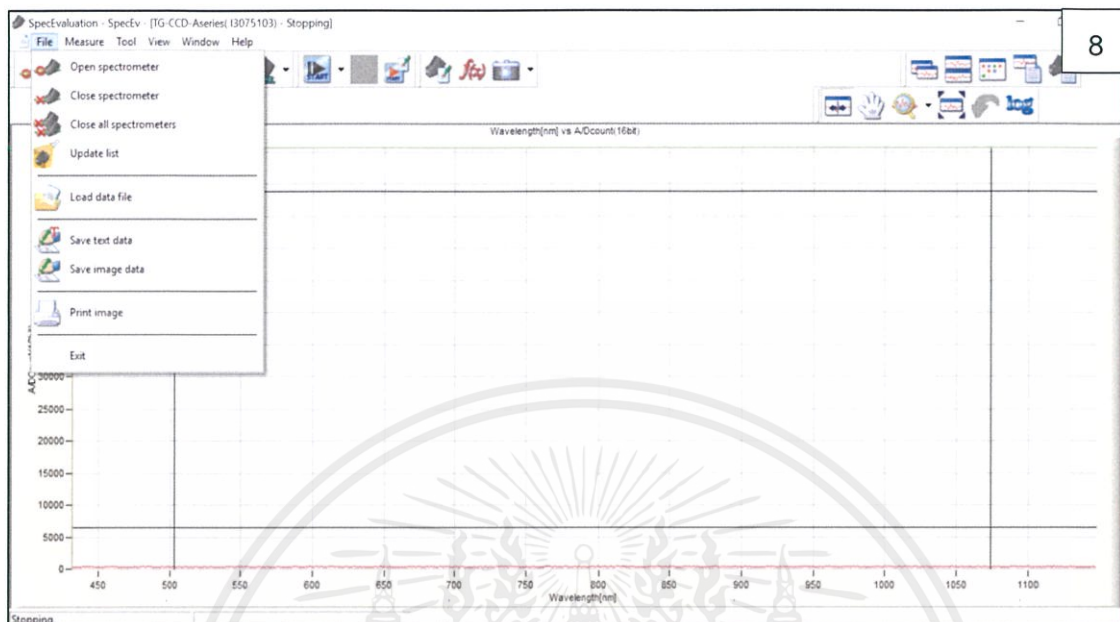
จากนั้นเลือก ไอคอน Measure ดังภาพหมายเลข 7 หลังจากนั้นทำการตั้งค่า Start Dark mode เพื่อเก็บค่าสัญญาณแวดล้อม เมื่อไม่ได้เปิดแหล่งกำเนิดแสง หลังจากนั้นเปิดแหล่งกำเนิดแสง เลือก Start Reference mode เพื่อวัดเงื่อนไขอ้างอิง หลังจากนั้น ทำการวัดสารละลายเป้าหมาย ด้วยการเลือก Start Measure mode



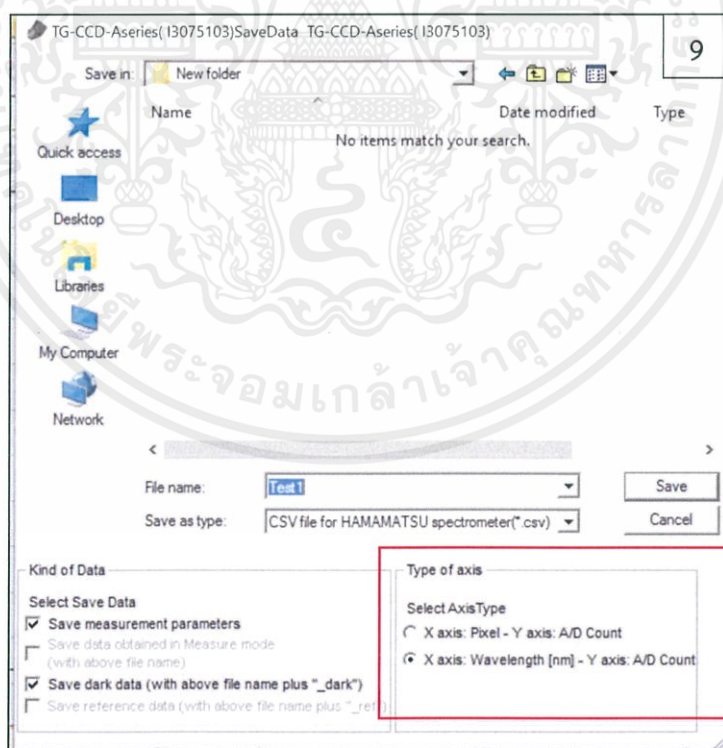
7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อทำการวัดเรียบร้อยแล้ว ทำการบันทึกข้อมูล โดยการเลือกไอคอน File → Save text data ดังหมายเลข 8

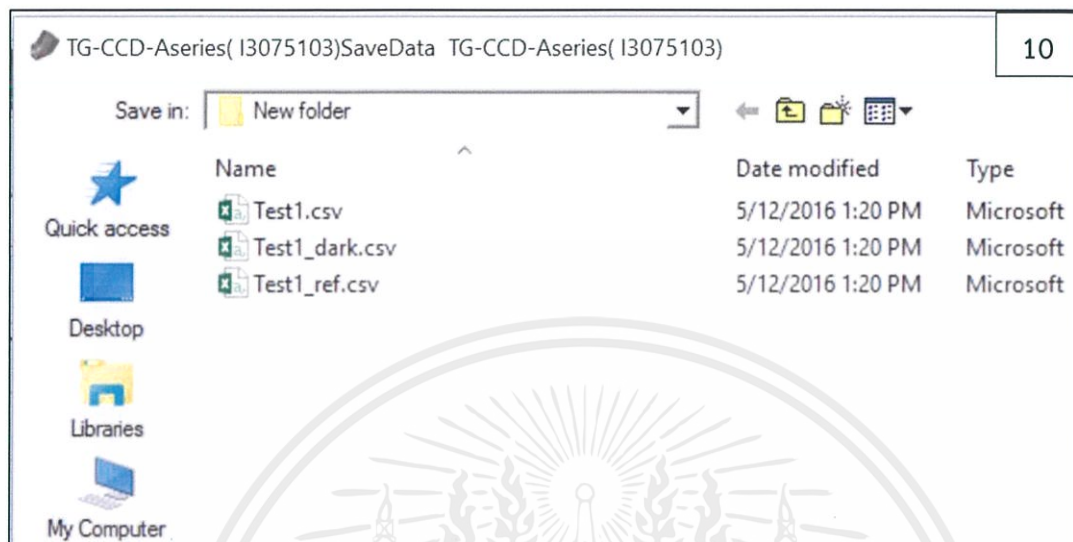


หมายเลข 9 ตั้งชื่อไฟล์ข้อมูลและเลือกชนิดของแกนในไฟล์ข้อมูลที่ต้องการ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โปรแกรมจะทำการบันทึกข้อมูลออกเป็นสามไฟล์ Data Dark และ Reference (หมายเลข 10) โดยจะข้อมูลดิบเป็นค่า Transmittance ของแสง และนำไปวิเคราะห์ ประมวลผลต่อไป



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล นายสิทธิพันธ์ เจริญสุวรรณ
วัน เดือน ปีเกิด 24 มิถุนายน 2537
ที่อยู่ 302/73 ซอยลาดพร้าว 83 ถนนลาดพร้าว แขวงคลองเจ้าคุณสิงห์
เขตวังทองหลาง กรุงเทพมหานคร 10310
ประวัติการศึกษา ระดับมัธยมศึกษา โรงเรียนเทพศิรินทร์

ประวัติการทำวิจัย 2558 (2015) Attended The 2nd International Conference on Applied Physics and Material Applications (ICAPMA 2015), “A Study and Characterization of Photophysical Properties of Thin film: Fluorene-derivative in OLEDs Application”.
2557 (2014) Topic “Fabrication and Characterization of Nano Thin Films from Natural Materials Using Various Solvents”, College of Nanotechnology, KMUTL, Thailand.
2556 (2013) Attended the 4th Thailand Nanotechnology innovation contest by College of Nanotechnology, “Detecting O₂ from Daily Product by Using Photobleaching Phenomena via TiO₂ Nanoparticles and Methylene Blue Dye”, KMUTL, Thailand

ประวัติการทำงาน มิถุนายน-กรกฎาคม 2558 (June-July, 2015)
Internship at International Institute of Technology, Kurume College, Kurume, Fukuoka, Japan in a topic “Synthesis ZnO Nanorods and TiO₂ Nanorods and Characterization by Using TEM, SEM and XRD”.