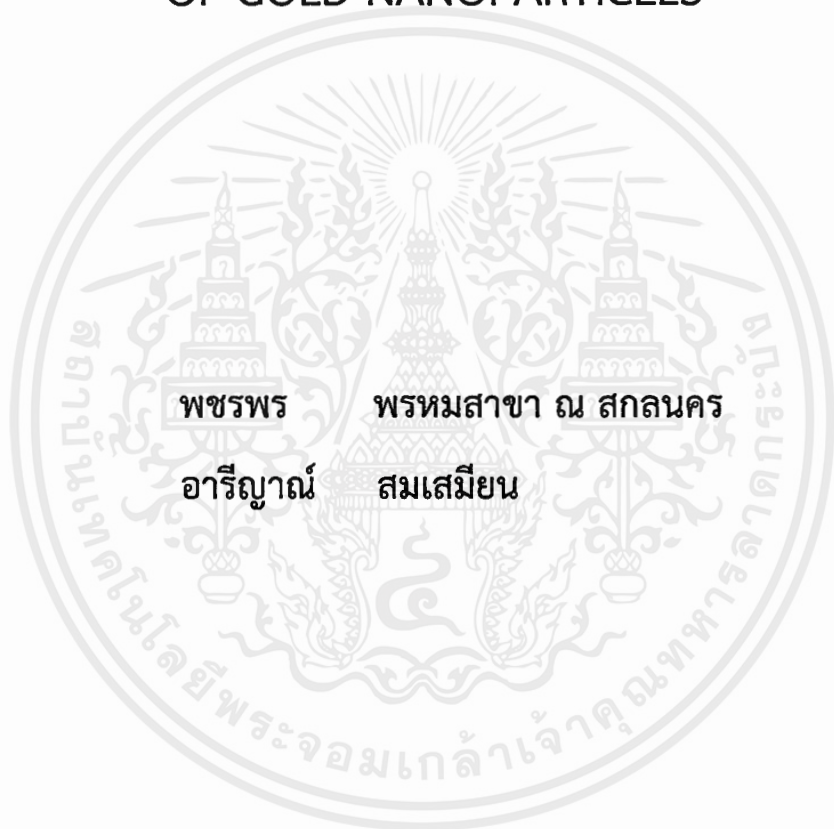


การตรวจวัดเชิงสีสำหรับการวิเคราะห์กรดดีกลูคูโรนิก
โดยใช้อนุภาคทองระดับนาโนที่ถูกปรับปรุงพื้นผิว

COLORIMETRIC SENSOR FOR DETERMINATION OF
D-GLUCURONIC ACID USING SURFACE MODIFICATION
OF GOLD NANOPARTICLES



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (สาขาเคมีอุตสาหกรรม)
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2561

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COLORIMETRIC SENSOR FOR DETERMINATION OF
D-GLUCURONIC ACID USING SURFACE MODIFICATION
OF GOLD NANOPARTICLES



PACHARAPORN PROMSAKHA NA SAKOLNAKORN
AREEYA SOMSAMIAN

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (INDUSTRIAL CHEMISTRY)
DEPARTMENT OF CHEMISTRY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2018

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ การตรวจวัดเชิงสีสำหรับการวิเคราะห์กรดดีกลูคูโรนิกโดยใช้อนุภาคทองระดับนาโนที่ถูกรับปรุงพื้นผิว

Colorimetric Sensor for Determination of D- Glucuronic Acid Using Surface Modification of Gold Nanoparticles

ชื่อนักศึกษา นางสาวพรพรรณ พรหมสาขา ณสกลนคร รหัสนักศึกษา 58050506

นางสาวอารีญาณ์ สมเสมียน รหัสนักศึกษา 58050579

ปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)

ภาควิชา เคมี

ปีการศึกษา 2561

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.เอกรัฐ เดชศรี

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2561

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ดร.ชวาลย์ ศรีวงษ์ ประธานกรรมการ	
ดร.กิตติมนต์ จิระกิตติดุลย์ กรรมการ	กิตติมนต์
ผศ.ดร.เอกรัฐ เดชศรี กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การตรวจวัดเชิงสีสำหรับการวิเคราะห์กรดดีกลูคูโรนิกโดยใช้อนุภาคทองระดับนาโนที่ถูกปรับปรุงพื้นผิว
ชื่อนักศึกษา	นางสาวพรรณ พรหมสาขา ณ สกลนคร รหัสนักศึกษา 58050506 นางสาวอารีญาณ์ สมเสมียน รหัสนักศึกษา 58050579
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	เคมี
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2561
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.เอกรัฐ เดชศรี

บทคัดย่อ

อนุภาคทองระดับนาโนที่ถูกปรับปรุงพื้นผิวถูกสร้างขึ้นเพื่อใช้ตรวจวัดเชิงสีสำหรับการวิเคราะห์กรดดีกลูคูโรนิก อนุภาคทองระดับนาโนถูกนำมาปรับปรุงพื้นผิวให้มีสภาพประจุบวกโดยใช้สารละลายโพลีไดเอทิลีนไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ คุณสมบัติเซอร์เฟส พลาสมอน เรโซแนนซ์ของอนุภาคทองระดับนาโนที่ถูกปรับปรุงพื้นผิวที่มีประจุบวกมีอิทธิพลต่อการวิเคราะห์กรดดีกลูคูโรนิก ซึ่งหลักในการตรวจวัดนั้นขึ้นอยู่กับความร่วมมือกันของอนุภาคทองระดับนาโนที่ถูกปรับปรุงพื้นผิวให้มีประจุบวก และประจุลบของกรดดีกลูคูโรนิก ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญของสเปกตรัมการดูดกลืนแสงที่เกิดจากเซอร์เฟส พลาสมอน เรโซแนนซ์ โดยสเปกตรัมจะเคลื่อนไปทางความยาวคลื่นมาก จาก 533 nm ถึง 720 nm สีของอนุภาคทองระดับนาโนเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีน้ำเงิน ซึ่งสามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่า และตรวจสอบด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ การตรวจวัดเชิงปริมาณของกรดดีกลูคูโรนิกโดยใช้อนุภาคทองระดับนาโน สามารถใช้สำหรับการวิเคราะห์กรดดีกลูคูโรนิกได้ในช่วง 2-100 mM มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) เท่ากับ 0.9930 ค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดกรดดีกลูคูโรนิก (LOD) เท่ากับ 4.8857 ± 0.005 mM และค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% RSD) ของการตรวจวัดที่ความเข้มข้น 15 mM คือ 1.39 % ดังนั้น อนุภาคทองระดับนาโนจึงสามารถนำมาใช้เป็นวัสดุสำหรับการตรวจวัดเชิงสี งานวิจัยการตรวจวัดเชิงสีสำหรับการวิเคราะห์กรดดีกลูคูโรนิกนี้เป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว มีความจำเพาะเจาะจง และมีค่าใช้จ่ายการคืนกลับที่ดีที่สุดสำหรับการตรวจวัดกรดดีกลูคูโรนิก

คำสำคัญ : กรดดีกลูคูโรนิก ตัวรับรู้เชิงสี อนุภาคทองนาโน

Title	Colorimetric Sensor for Determination of D-Glucuronic Acid Using Surface Modification of Gold Nanoparticles
Student	Miss Pacharaporn Promsakha na sakolnakorn Student ID 58050506 Miss Areeya Somsamian Student ID 58050579
Degree	Bachelor of Science (Industrial Chemistry)
Department	Chemistry
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2018
Advisor	Asst.Prof. Dr. Ekarat Detsri

Abstract

A colorimetric sensor for the detection of D-Glucuronic acid was fabricated based on surface modification of Au nanoparticles (AuNPs). AuNPs was modified the surface by cationic poly(diallyldimethyl ammonium chloride) (PDADMAC) to form positively charged AuNPs. The surface plasmon resonance (SPR) properties of positively charged AuNPs were strongly influenced by the addition of D-Glucuronic acid. The detection principle was based on the aggregation of positively charged AuNPs and negatively charged D-Glucuronic acid, which leads to the significant bathochromic shift of the SPR spectra from 533 nm to 720 nm. The dramatic color changes from the initial purple to blue can be observed, which allowed simple monitoring of D-Glucuronic acid ether by naked eye and UV-vis spectrophotometer. With UV-vis spectrophotometer measurements, a quantitative linearity was established in the range of 2–100 mM ($R^2=0.9930$) and with a limit of detection (LOD) of 4.8857 ± 0.005 mM. Relative standard deviation (RSD) of 1.39 % was achieved for the determination of 15 mM. The proposed colorimetric sensor for D-Glucuronic acid detection is simple, sensitive and has the excellent recovery results for D-Glucuronic acid detection.

Keywords : D-Glucuronic Acid, Colorimetric Sensor, Gold Nanoparticles

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษ เรื่องการตรวจวัดเชิงสีสำหรับการวิเคราะห์กรดดีกลูโคนิกโดยใช้อนุภาคของระดับนาโนที่ถูกปรับปรุงพื้นผิว สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความอนุเคราะห์จาก ผศ.ดร.เอกรัฐ เดชศรี ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ ที่กรุณาให้ความรู้คำปรึกษา ตลอดจนให้คำแนะนำด้วยความเอาใจใส่เป็นอย่างดีมาโดยตลอด คณะผู้จัดทำโครงการพิเศษจึงขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

คณะผู้จัดทำโครงการพิเศษนี้ขอขอบพระคุณคณะกรรมการ ดร.ชวาลย์ ศรีวิงษ์ และ ดร.กิตติมนต์ จิระกิตติคุณย์ ที่กรุณาเป็นคณะกรรมการสอบ ตลอดจนให้คำแนะนำ และข้อเสนอแนะ เพื่อให้โครงการพิเศษนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ และเจ้าหน้าที่ห้องธุรการ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่อำนวยความสะดวกด้านสารเคมี เครื่องมือ อุปกรณ์ทางวิทยาศาสตร์ต่างๆ และช่วยติดต่อประสานงานต่อการทำโครงการพิเศษเป็นอย่างดี

สุดท้ายนี้ คณะผู้จัดทำโครงการพิเศษ ขอขอบคุณบิดา มารดา และครอบครัว ที่สนับสนุน และให้กำลังใจตลอดมาในการทำโครงการพิเศษจนสำเร็จลุล่วง

พรพร พรหมสาขา ณ สกลนคร
อารีญาณ์ สมเสมียน

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	จ
สารบัญรูป.....	ฉ
คำย่อและสัญลักษณ์.....	ช
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	1
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 กรดกลูคูโรนิก.....	3
2.1.1 ข้อมูลทั่วไปของกรดดีกลูคูโรนิก.....	3
2.1.2 คุณสมบัติการแตกตัวของกรดดีกลูคูโรนิก.....	3
2.1.3 ประโยชน์และโทษของกรดดีกลูคูโรนิก.....	4
2.1.4 วิธีการวิเคราะห์กรดดีกลูคูโรนิก.....	4
2.2 เซนเซอร์ทางแสง (Optical sensor).....	6
2.2.1 ทฤษฎีเซอร์เฟซพลาสมอนเรโซแนนซ์ (Surface Plasmon Resonance, SPR).....	6
2.2.2 อุปกรณ์และเครื่องมือที่นำมาทำเป็นเซนเซอร์.....	7
2.3 อนุภาคทองระดับนาโน.....	12
2.3.1 การสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโน.....	12
ก. วิธีรีดักชันทางเคมี (Chemical reduction).....	12
ข. วิธีของบัสส์ท์และชิฟฟรอน (Burst- Schiffrin method).....	13
ค. วิธีปลูกเมล็ด (Seed-mediated growth method).....	14
ง. การใช้วิธีเติมย้อนกลับ (Reverse addition method).....	15
2.4 การพิสูจน์เอกลักษณ์ (Characterization).....	15
2.4.1 ยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตเมทรี (UV-vis Spectrophotometry).....	16
2.4.2 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission electron	

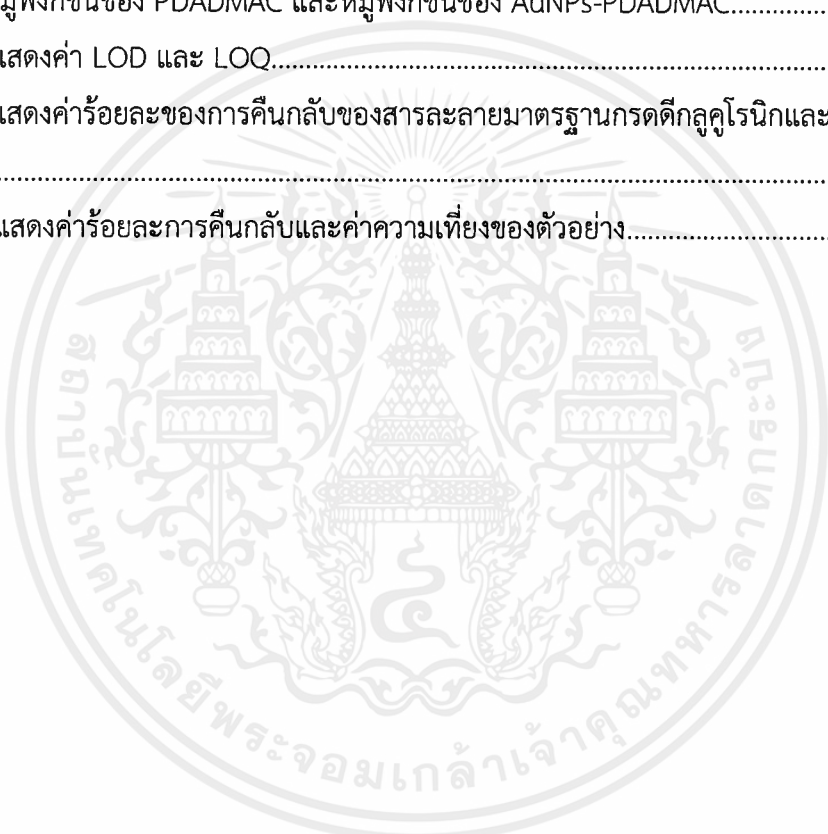
microscopy; TEM).....	16
2.4.3 พูเรียร์ทรานฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (Fourier Transform Infrared Spectroscopy; FT-IR).....	17
2.4.4 ศักย์ซีต้า (Zeta Potential).....	18
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	19
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	26
3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง.....	26
3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง.....	26
3.3 สารเคมี.....	27
3.4 การสังเคราะห์อนุภาคทองนาโนโดยวิธีเทอร์เควิช.....	27
3.4.1 การหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายไตรโซเดียมซิเตรท.....	27
3.4.2 การหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพลีไดแอลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ (PDADMAC).....	28
3.5 การศึกษาการรับรู้ของอนุภาคทองนาโนในการวิเคราะห์.....	29
3.5.1 การศึกษาความเป็นเส้นตรง.....	29
3.5.2 การศึกษาเวลาที่เหมาะสม.....	30
3.5.3 การศึกษา pH ที่เหมาะสม.....	30
3.6 การศึกษาตัวแปรทางเคมีวิเคราะห์.....	31
3.6.1 การศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD).....	31
3.6.2 การศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ (LOQ).....	31
3.6.3 การศึกษาค่าร้อยละการคืนกลับและความเที่ยง.....	32
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล.....	34
4.1 การศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโน.....	34
4.1.1 การศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนโดยวิธีของเทอร์เควิช.....	34
ก. ผลการศึกษาการหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายไตรโซเดียมซิเตรทสำหรับการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโน.....	34
4.2 การศึกษาการปรับปรุงสภาพพื้นผิวของอนุภาคทองระดับนาโนด้วยโพลีไดแอลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์.....	39
4.3 การศึกษาการตรวจวัดเชิงสีของทองอนุภาคระดับนาโนในการวิเคราะห์กรดตีกูลูโรนิก.....	44
4.3.1 การศึกษาความเป็นเส้นตรง.....	44
4.3.2 การศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการวิเคราะห์กรดตีกูลูโรนิก.....	46
4.3.3 การศึกษา pH ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์กรดตีกูลูโรนิก.....	47

4.3.4 การศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD).....	48
4.3.5 การศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ (LOQ).....	49
4.3.6 การศึกษาค่าร้อยละการคืนกลับ (% Recovery) และค่าความเที่ยง (Precision).....	49
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	51
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	51
5.2 ปัญหาและอุปสรรค.....	51
เอกสารอ้างอิง.....	52
ภาคผนวก ก.....	60
ภาคผนวก ข.....	67
ภาคผนวก ค.....	71



สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ค่าความแม่นยำและความเที่ยง.....	5
2.2 ค่าร้อยละการคืนกลับและความเที่ยง.....	5
2.3 ข้อดีและข้อเสียของวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์กรดดีกลูคูโรนิก.....	7
2.4 ตารางแสดงผลของการวิเคราะห์ตัวอย่างต่างๆของวิธี UHPLC-RID.....	24
4.1 แสดงค่าความยาวคลื่นสูงสุด (λ_{max}) ของอนุภาคทองระดับนาโน.....	36
4.2 แสดงหมู่ฟังก์ชันของ Sodium citrate และหมู่ฟังก์ชันของ AuNPs.....	39
4.3 แสดงหมู่ฟังก์ชันของ PDADMAC และหมู่ฟังก์ชันของ AuNPs-PDADMAC.....	44
4.4 ตารางแสดงค่า LOD และ LOQ.....	49
4.5 ตารางแสดงค่าร้อยละของการคืนกลับของสารละลายมาตรฐานกรดดีกลูคูโรนิกและค่าความ เที่ยง.....	49
4.6 ตารางแสดงค่าร้อยละการคืนกลับและค่าความเที่ยงของตัวอย่าง.....	50



สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 โครงสร้างของกรดดีกลูคูโรนิก.....	3
2.2 Mass spectrum ของกลูคูโรนิก.....	6
2.3 การเกิดเซอร์เฟสพลาสมอนเรโซแนนซ์ (Surface Plasmon Resonance).....	8
2.4 (a) ค่าการดูดกลืนแสงของ AuNPs/TBA (b) ค่าการดูดกลืนแสงของ AuNPs/DMT ที่ความยาวคลื่น 520 nm.....	9
2.5 ค่าการดูดกลืนแสงของสารประกอบเชิงซ้อนทองแดงและดีเพนนิซิลาไมน์ที่ความยาวคลื่น 520 nm.....	10
2.6 ค่าการดูดกลืนแสงของตรวจวัดฟลูออไรด์ที่ความเข้มข้น 5-100 μM ที่ความยาวคลื่น 520 nm..	11
2.7 (a) ค่าการดูดกลืนแสงของ HAuCl_4 0.015 g (b) ค่าการดูดกลืนแสงของ HAuCl_4 0.045 g ที่ความยาวคลื่น 530 nm.....	12
2.8 (A) สีการเปลี่ยนแปลง (B) ค่าการดูดกลืนแสงการตรวจวัดปริมาณปรอท ที่ความยาวคลื่น 530 nm (a) AuNPs (b) AuNPs/ Hg^{2+} (c) AuNPs/ Hg^{2+} /AA (d) AuNPs/ Hg^{2+} /AA/SH-HPEI.....	13
2.9 รูปภาพจากเครื่อง TEM ของ AuNPs (a) ขนาด 22 nm และ (b) ขนาด 48 nm.....	14
2.10 กลไกการสังเคราะห์หอนุภาคทองระดับนาโนด้วยวิธีของบัลลิสต์และซิฟรอน.....	15
2.11 รูปจากเครื่อง TEM ของอนุภาคทองระดับนาโน.....	16
2.12 ส่วนประกอบของเครื่อง UV-vis Spectrophotometer.....	17
2.13 ส่วนประกอบของเครื่อง TEM.....	18
2.14 การทำงานของเครื่อง FT-IR.....	19
2.15 ความต่างศักย์ระหว่างศักย์ไฟฟ้า.....	20
2.16 แสดงการสังเคราะห์หอนุภาคทองระดับนาโนที่ถูกทำให้เสถียรด้วยเฮพารินในการตรวจวัดสารต้านอนุมูลอิสระ.....	21
2.17 ค่าการดูดกลืนแสงของ Cu (I)-Nc-AuNP ที่ความเข้มข้น 3.1 24.8 49.6 71.3 และ 90.5 μM	21
2.18 ค่าการดูดกลืนแสงของกรดไซอะลิกที่ความเข้มข้น 0.08 0.10 0.50 1.00 และ 2.00 mM.....	22
2.19 ขั้นตอนการสังเคราะห์หอนุภาคทองระดับนาโนและการตรวจวัดซิสเตอีน.....	23
2.20 ค่าการดูดกลืนแสงของซิสเตอีนที่ความเข้มข้น (a) 0.1 ppm (b) 0.5 ppm (c) 1.5 ppm.....	23
2.21 ค่าการดูดกลืนแสงของ PDGF-BB ที่ความเข้มข้น 2 4 8 10 20 40 และ 80 nM.....	24
3.1 แผนผังวิธีการสังเคราะห์ AuNPs ด้วยไตรโซเดียมซิเตรทความเข้มข้น 10 15 20 และ 30 mM.....	27
3.2 แผนผังวิธีการปรับปรุงพื้นผิว AuNPs ด้วย PDADMAC.....	28

3.3	แผนผังวิธีการศึกษาความเป็นเส้นตรงของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณกรดดีกลูคูโรนิกด้วย AuNPs-PDADMAC.....	29
3.4	แผนผังวิธีการศึกษาเวลาที่เหมาะสม.....	30
3.5	แผนผังวิธีการศึกษา pH ที่เหมาะสม.....	31
3.6	แผนผังวิธีการศึกษาค่าร้อยละการคืนกลับของสารละลายมาตรฐานกรดดีกลูคูโรนิก.....	32
3.7	แผนผังวิธีการศึกษาค่าร้อยละของการคืนกลับของกรดดีกลูคูโรนิกในตัวอย่าง 1 2 และ 3.....	33
4.1	ปฏิกิริยาการสังเคราะห์ AuNPs (a) Ligand Exchange Reaction and (b) Decarboxylation and Reduction of Au (III).....	34
4.2	การรักษาเสถียรภาพของไตรโซเดียมซิเตรท.....	35
4.3	ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย AuNPs ที่สังเคราะห์ด้วยสารละลายไตรโซเดียมซิเตรท ที่ความเข้มข้น 10 15 20 และ 30 mM.....	36
4.4	ภาพถ่ายจากเครื่อง TEM ของ AuNPs ความเข้มข้น 15 mM (a) สเกล 50 nm (b) สเกล 100 nm (c) กราฟแสดงอนุภาคเฉลี่ยของ AuNPs.....	37
4.5	แสดงหมู่ฟังก์ชันของ (a) ไตรโซเดียมซิเตรท (b) อนุภาคทองระดับนาโน.....	38
4.6	(a) สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ AuNPs-PDADMAC (b) ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 533 nm ของ AuNPs-PDADMAC.....	40
4.7	อนุภาคทองระดับนาโนที่ถูกปรับปรุงสภาพพื้นผิวด้วยสารละลาย PDADMAC.....	41
4.8	แสดงค่าศักย์ซีต้าของ AuNPs ที่ปรับปรุงสภาพพื้นผิวด้วยสารละลาย PDADMAC.....	42
4.9	ภาพถ่ายจากเครื่อง TEM ของ AuNPs-PDADMAC (a) สเกล 100 nm และ (b) สเกล 200 nm.....	43
4.10	สเปกตรัม FT-IR ของ (a) PDADMAC (b) AuNPs-PDADMAC.....	43
4.11	ค่าการดูดกลืนแสงของ AuNPs-PDADMAC ที่ใช้เป็นตัวรับรู้เชิงสีในการวิเคราะห์กรดดีกลูคูโรนิกที่ความเข้มข้น 2 ถึง 100 mM.....	45
4.12	กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงช่วงความยาวคลื่น 533 nm และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดดีกลูคูโรนิก.....	46
4.13	ค่าการดูดกลืนแสงของการวิเคราะห์กรดดีกลูคูโรนิกที่เวลาต่างกัน.....	47
4.14	ค่าการดูดกลืนแสงของการวิเคราะห์กรดดีกลูคูโรนิกที่ pH ต่างกัน.....	48

คำย่อ/สัญลักษณ์

คำย่อ/สัญลักษณ์	คำอธิบาย
AuNPs	Gold nanoparticles
PDADMAC	Poly (diallyldimethylammoniumchloride)
D-GlcA	D-Glucuronic acid sodium salt monohydrate
UV-vis spectrophotometer	Ultraviolet-visible spectrophotometer
FT-IR	Fourier Transform Infrared Spectrophotometer
TEM	Transmission Electron Microscopy
mL	Milliliter (มิลลิลิตร)
M	Molar (โมลาร์)
mM	Millimolar (มิลลิโมลาร์)
nm	Nanometer (นาโนเมตร)
pH	p function of Hydrogen ion
R ²	Relative coefficient (ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ)
LOD	Limit of Detection (ขีดจำกัดต่ำสุดของตรวจวัด)
LOQ	Limit of Quantitative (ขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์)
S.D.	Standard Deviation (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

กรดตึกลูคูโรนิกเป็นอนุพันธ์ของน้ำตาลกลูโคส สามารถพบได้มากมายในธรรมชาติ ซึ่งในปัจจุบันกรดตึกลูคูโรนิกถูกนำมาใช้ประโยชน์ในเชิงอุตสาหกรรมอย่างต่อเนื่อง โดยอุตสาหกรรมที่นำกรดตึกลูคูโรนิกมาเป็นวัตถุดิบในกระบวนการผลิตนั้นมีอุตสาหกรรมหลักๆคือ อุตสาหกรรมการผลิตยา [1] ยกตัวอย่างเช่น เป็นส่วนผสมในยาแก้ไอข้ออักเสบ และยาหยอดตา เป็นต้น โดยกรดตึกลูคูโรนิกนั้นทำหน้าที่เปลี่ยนสารพิษที่เข้าสู่ร่างกายให้มีพิษลดลง โดยเมื่อสารพิษที่เข้าสู่ร่างกายจะเข้าสู่ตับ [2] โดยสารพิษจะรวมตัวกับกรดตึกลูคูโรนิก จากนั้นจึงออกจากตับทางท่อน้ำดีเข้าสู่ลำไส้ใหญ่และกำจัดทิ้งทางปัสสาวะ นอกจากนี้ยังสามารถพบกรดตึกลูคูโรนิกได้ตามกระบวนการต่างๆ ในร่างกายทั้งมนุษย์ พืชและสัตว์ แต่หากในร่างกายมนุษย์มีปริมาณกรดตึกลูคูโรนิกน้อยเกินไปอาจทำให้เกิดไขข้อเสื่อม

วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณของกรดตึกลูคูโรนิกโดยทั่วไปมีหลายเทคนิคยกตัวอย่างเช่น Mixed-Mode Liquid Chromatography [3], High-Performance Liquid Chromatography [4] และ Gas Chromatography-Mass Spectrometry [5] เป็นต้น ซึ่งเทคนิคที่กล่าวมาข้างต้นนี้ล้วนแล้วแต่เป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพ มีความแม่นยำ และสะดวกในการวิเคราะห์เป็นอย่างมาก หากแต่เทคนิคเหล่านี้มีราคาต้นทุนที่สูง บางเทคนิคต้องใช้ปริมาณสารตัวอย่างมาก บางเทคนิคใช้เวลาในการเตรียมสารตัวอย่างในการวิเคราะห์นาน และบางเทคนิคใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน จึงทำให้มีการคิดค้นและพัฒนาวิธีวิเคราะห์ในการหาปริมาณกรดตึกลูคูโรนิกที่ไม่ต้องใช้เครื่องมือที่มีต้นทุนสูง ประหยัดเวลาในการเตรียมสารและการตรวจวิเคราะห์ ซึ่งในปัจจุบันนิยมใช้เทคนิคเซนเซอร์ทางแสง (Optical Sensor) [6] ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารต่างๆ เนื่องจากเป็นวิธีวิเคราะห์ที่สะดวก รวดเร็ว ราคาถูก และสามารถวิเคราะห์สารตัวอย่างเบื้องต้นได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ดังนั้น ในงานวิจัยนี้จึงได้ทำการพัฒนาวิธีวิเคราะห์กรดตึกลูคูโรนิกให้มีความจำเพาะเจาะจง มีความไว แม่นยำมากขึ้น และมีประสิทธิภาพมากขึ้น โดยการปรับปรุงพื้นผิวของอนุภาคทองระดับนาโนด้วยโพลีไดแอลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ เพื่อเป็นตัวรับรู้เชิงสีในการวิเคราะห์กรดตึกลูคูโรนิก

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1) เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโน และการปรับสภาพพื้นผิวของอนุภาคทองระดับนาโน
- 2) เพื่อศึกษาปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการวิเคราะห์กรดตึกลูคูโรนิกด้วยอนุภาคทองระดับนาโน

- 3) เพื่อประเมินประสิทธิภาพการวิเคราะห์กรดดีกลูคูโรนิกด้วยอนุภาคทองระดับนาโน

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

- 1) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโน โดยใช้สารละลายไตรโซเดียมไซเตรตความเข้มข้นในช่วง 10-30 mM และการปรับสภาพพื้นผิวของอนุภาคทองระดับนาโน โดยใช้สารละลายโพลีไดแอลลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ความเข้มข้นในช่วง 0.00001-0.2 M
- 2) ศึกษาปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการวิเคราะห์กรดดีกลูคูโรนิกด้วยอนุภาคทองระดับนาโน ได้แก่ การศึกษาความเป็นเส้นตรงปัจจัยที่มีผลต่อเวลา และความเป็นกรด-เบส
- 3) ศึกษาการประเมินประสิทธิภาพการวิเคราะห์กรดดีกลูคูโรนิกด้วยอนุภาคทองระดับนาโน ได้แก่ ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด ขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ และค่าร้อยละการคืนกลับ

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) ทราบถึงสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโน และการปรับสภาพพื้นผิวของอนุภาคทองระดับนาโน
- 2) ทราบถึงปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการวิเคราะห์กรดดีกลูคูโรนิกด้วยอนุภาคทองระดับนาโน
- 3) ทราบถึงการประเมินประสิทธิภาพการวิเคราะห์กรดดีกลูคูโรนิกด้วยอนุภาคทองระดับนาโน

บทที่ 2

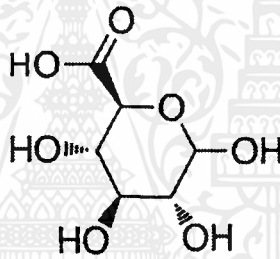
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 กรดดีกลูคูโรนิก

2.1.1 ข้อมูลทั่วไปของกรดดีกลูคูโรนิก

กรดดีกลูคูโรนิก (D-Glucuronic Acid) มีลักษณะเป็นผงสีขาว และมีมวลอะตอมเท่ากับ 234.14 กรัมต่อโมล โดยกรดดีกลูคูโรนิกเป็นอนุพันธ์ของน้ำตาลกลูโคส มีคาร์บอนอะตอมทั้งหมด 6 ตัว ซึ่งเกล็ดของกรดที่เป็นที่รู้จักกันคือ กลูคูโรเนต สามารถละลายได้ดีในน้ำ พบได้ในคอมบูชะ (ชาหมัก) [7] กัมอะราบิก (ยางไม้ ใช้เป็นสารให้ความข้นหนืดในผลิตภัณฑ์ขนมหวาน) [8, 9] และยังพบในส่วนต่างๆ ของร่างกายมนุษย์ [10] พืช และสัตว์

2.1.2 คุณสมบัติการแตกตัวของกรดดีกลูคูโรนิก



รูปที่ 2.1 โครงสร้างของกรดดีกลูคูโรนิก

กรดดีกลูคูโรนิกมีค่าการแตกตัว (pK_a) เท่ากับ 3.21 ซึ่งกรดดีกลูคูโรนิกมีสมบัติเป็นกรดอ่อนที่มีค่าคงที่การแตกตัว K_a (Acid Dissociation Constant) เท่ากับ 6.16×10^{-4} ที่ pH ต่างๆ กรดดีกลูคูโรนิกมีการแตกตัวดังนี้

pH	สูตรโครงสร้างการแตกตัวของกรดดีกลูคูโรนิก
> 3.21	
< 3.21	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3 ประโยชน์และโทษของกรดดีกลูคูโรนิก

กรดดีกลูคูโรนิกทำหน้าที่เปลี่ยนสารพิษที่เข้าสู่ร่างกายเมื่อผ่านไปตับ ให้มีพิษลดลง โดยเมื่อสารพิษที่เข้าสู่ร่างกายจะเข้าสู่ตับ และถูกกำจัดออกนอกร่างกายด้วยกระบวนการที่เรียกว่า กลูคูโรนิเดชัน (Glucuronidation) โดยสารพิษจะรวมตัวกับกรดดีกลูคูโรนิก เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกลูคูโรนอิด (Glucuronide Complex) สารประกอบที่เกิดขึ้นมีความเป็นพิษน้อยลงหรือหมดความเป็นพิษ ซึ่งผ่านออกจากตับทางท่อน้ำดี เข้าสู่ลำไส้ใหญ่และกำจัดทิ้งทางอุจจาระและปัสสาวะ นอกจากนี้ถ้าเกิดการสะสมของบิลิรูบินร่วมกับกรดดีกลูคูโรนิกจะทำให้ไม่สามารถขับบิลิรูบินออกทางปกติได้ จึงถูกดูดซึมกลับเข้าสู่ร่างกายอีกครั้ง เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคดีซ่าน [11] และหากมีกรดดีกลูคูโรนิกในร่างกายมากเกินไปจะเป็นสาเหตุทำให้เกิดเนื้องอกและโรคมะเร็ง แต่ถ้ามีปริมาณน้อยเกินไปอาจจะทำให้เกิดโรคไขข้ออักเสบ

2.1.4 วิธีการวิเคราะห์กรดดีกลูคูโรนิก

วิธีการวิเคราะห์กรดดีกลูคูโรนิกที่เป็นวิธีมาตรฐานมีหลายวิธี เช่น Mixed-Mode Liquid Chromatography, High-Performance Liquid Chromatography และ Gas Chromatography-Mass Spectrometry เป็นต้น โดยแต่ละเทคนิคจะความสามารถในการวิเคราะห์ ข้อดีและข้อเสียแตกต่างกันไป โดยมีวิธีวิเคราะห์ดังนี้

เคอส์ติน เบโตร และคณะ [3] ได้เห็นความสำคัญของกรดดีกลูคูโรนิก ที่เป็น 1 ใน 10 ของสารชีวเคมีที่มีความสามารถในการแทนที่ของสารเคมีที่มีน้ำมันเป็นองค์ประกอบหลัก และสามารถพบได้ทั้งในยีสต์และแบคทีเรีย จึงได้พัฒนาวิธีการตรวจวัดและวิเคราะห์ Myo-Inositol (Ino), D-glucuronic acid (D-GlcA), D-Glucose-6-Phosphate (G6P) และ D-glucaric acid (GlucA) ซึ่งจะทำการตรวจวัดโดยใช้วิธี Mixed-Mode Liquid Chromatography (MM HILIC) และ Weak Anion Exchange Chromatography (WAX) ควบคู่กับ High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) ซึ่งใช้ Refractive Index Detector (RID) เป็นตัวตรวจวัด ทำการทดลองโดยการเตรียมตัวอย่างผสมของแบคทีเรียในอีโคโนโลกับคาเบนิซิลลิน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และปั่นเหวี่ยงด้วยแรงเหวี่ยงที่ 250 รอบต่อนาที จากนั้นเติม Isopropyl β -D-Thiogalactoside (IPTG) แล้วแช่เย็นที่อุณหภูมิ 16 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 ชั่วโมง จากนั้นไปปั่นเหวี่ยงด้วยแรงเหวี่ยงที่ 4000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปตรวจวัดโดย MM HILIC ซึ่งเป็นการตรวจวัดสารโดยการแยกสาร ซึ่งใช้อัตราการไหลของเฟสคงที่แบบเดียวตลอดการแยก (Isocratic) โดยตัวทำละลายจะถูกปรับให้เหมาะสมสำหรับการแยก D-GlcA แสดงผลดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ค่าความแม่นยำและความเที่ยง

Compound	Accuracy (% Recovery)		Precision (% RSD)	
	10 mM	20 mM	10 mM	20 mM
Ino	96.2	104.0	2.6	0.5
D-GlcA	94.2	106.4	0.4	4.0
G6P	103.4	106.8	5.8	6.1
GlucA	101.3	98.2	5.0	1.8

ผลการทดลองพบว่า สภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการทำงานวิจัยครั้งนี้ ควรใช้ตัวอย่างผสมของแบคทีเรียในอีโคโลกับคาเบนนิซิลลิน และ Isopropyl β -D-Thiogalactoside (IPTG) ปั่นเหวี่ยงด้วยแรงเหวี่ยงที่ 4000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ซึ่งเทคนิคที่พัฒนาขึ้นเป็นวิธีการที่ง่าย มีการทำซ้ำที่ดี นอกจากนี้ยังมีความแม่นยำและความเที่ยงสูง โดยมีค่า LOD และ LOQ คือ 1.5-2 และ 577 mM ตามลำดับ แต่ขั้นตอนการเตรียมสารอาจจะมีหลายขั้นตอนทำให้ใช้เวลานานขึ้นในการทำการทดลอง

ซิจิโอะ ซูซูกิ และคณะ [4] ได้วิเคราะห์หากรดกลูคูโรโนแลคโตน (GlcLA) และกรดกลูคูโรนิก (D-GlcA) ในยาที่ใช้ในการรักษาโรคเกี่ยวกับตับ หรือระบบของเสีย ซึ่งใช้การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) ซึ่งจะทำการเตรียมสารตัวอย่างโดยการเตรียมยาที่มีกรดกลูคูโรโนแลคโตน และกรดดีกลูคูโรนิกเป็นส่วนประกอบจำนวน 20 เม็ด โดยมีปริมาตร 50 mg ของกรดดีกลูคูโรนิกต่อเม็ด จากนั้นนำไปละลายน้ำ 200 mL และไปปรับปริมาตรด้วยขวดวัดปริมาตร 1000 mL และนำสารตัวอย่างมา 20 L ผสมเมทานอล ความเข้มข้น 0.5 M ปริมาตร 20 L ทำการผสมเป็นเวลา 20 นาที อุณหภูมิ 70 องศา จากนั้นนำไปตรวจวัดด้วยเครื่อง HPLC โดยกระบวนการแยกสารนั้นจะเกิดขึ้นระหว่างเฟส 2 เฟส คือ Stationary Phase (SP) และ Mobile Phase (MP) ซึ่งสารจะถูกแยกออกมาในเวลาที่แตกต่างกัน แสดงผลการตรวจวัด ดังตารางที่ 2.2

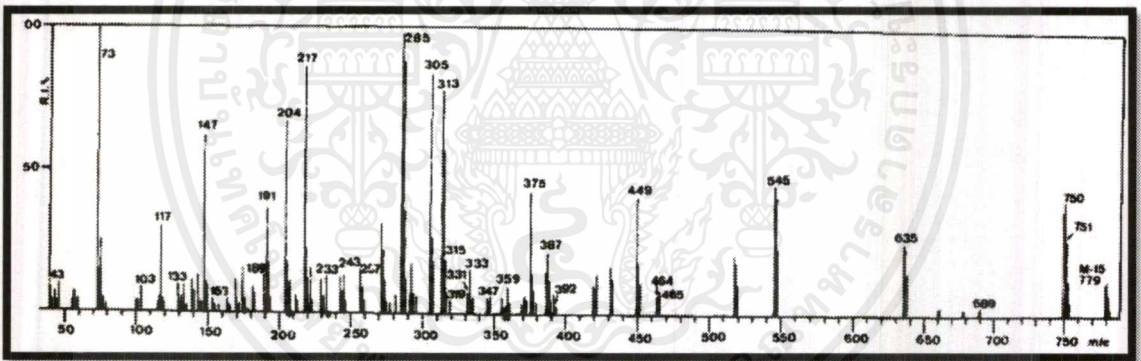
ตารางที่ 2.2 ค่าร้อยละการคืนกลับและค่าความเที่ยง

Compound	Concentration (mg/100 mL)	Recovery (mg/100 mL)	RSD (%)
GlcLA	100	103 \pm 2	1.9
	500	505 \pm 19	3.0
	1000	1010 \pm 20	2.0
GlcA	100	98 \pm 1	1.0
	500	505 \pm 6	1.2
	1000	998 \pm 20	2.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลที่ได้จากงานวิจัยนี้คือ จากการวิเคราะห์กรดกลูคูโรโนแลคโตน และกรดกลูคูโรนิกพบว่า ใช้เวลาในการวิเคราะห์สารทั้งหมด 40 นาที เนื่องจากในกระบวนการวิเคราะห์นั้น กรดดีกลูคูโรนิก สามารถผสมเข้ากันได้ดีกับตัวทำละลายจึงถูกแยกออกมาก่อนภายในเวลาไม่ถึง 20 นาที หลังจากนั้น กรดกลูคูโรโนแลคโตนจึงถูกแยกตามมา โดยมีค่าร้อยละการคืนกลับและค่าความเที่ยงสูง มีสมการเส้นตรงคือ $0.0166x + 0.00706$ และมีค่า $R^2 = 0.9990$

ในการวิเคราะห์กรดกลูคูโรนิกของมารเทนและคณะ [5] ได้ทำการศึกษากรดกลูคูโรนิกที่อยู่ในปัสสาวะของลิง โดยกรดกลูคูโรนิกเมื่อจับกับสารพิษในร่างกายจะเปลี่ยนเป็นกลูคูโรไนด์ จึงทำการสกัดกลูคูโรไนด์จากปัสสาวะลิงด้วยการนำตัวอย่างปัสสาวะลิง 100 mL มาปรับ pH ด้วยแอมโมเนีย ให้ถึง pH 10 จากนั้นสกัดด้วยคลอโรฟอร์มจำนวน 3 ครั้งแล้วเติมสารละลายไอโซโพรพานอลลงไป เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นจึงเติม 1,2-Propanediol, 1-[4-[(L-Methylethyl) Sulfonyl] Phenyl] (SSG) เพื่อให้ไปจับกับกลูคูโรไนด์ทำให้วิเคราะห์ง่ายขึ้น แล้วนำไปกรองภายใต้อุณหภูมิ 37°C ต่อมานำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) โดยสารตัวอย่างจะถูกฉีดเข้าสู่เครื่อง GC ก่อน และสารตัวอย่างจะระเหยเป็นไอก่อนที่จะเข้าสู่คอลัมน์ ที่อุณหภูมิ 290 °C และอัตราการไหลอยู่ที่ 30 mL/min จากนั้นเครื่องจะประมวลผลแล้วส่งต่อไปยังเครื่อง MS เพื่อทำการวิเคราะห์ออกมาเป็นเลขมวล แสดงผลดังรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 Mass spectrum ของกลูคูโรไนด์

จากรูปที่ 2.2 เป็นการแสดงเลขมวลของสารที่สามารถวิเคราะห์ได้ โดยเมื่อวิเคราะห์หาองค์ประกอบของกลูคูโรไนด์พบว่า มี aliphatic OH group โดยพบพีคคู่ที่เลขมวล 117 กับ 285 ต่อมาพบ 2-OH ของกลูคูโรไนด์ที่เลขมวล 285 กับ 313 และพบอนุพันธ์ของกรดกลูคูโรนิกที่เลขมวล 406 กับ 407 ซึ่งวิธีวิเคราะห์นี้สามารถแยกกรดกลูคูโรไนด์ในปัสสาวะของลิงออกจากตัวรบกวนอื่นๆ ได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้ยังสามารถวิเคราะห์ได้อย่างแม่นยำ มีความไวสูง และสามารถเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ด้วยกรดดีกลูคูโรนิกด้วยเทคนิคต่างๆ ดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 ข้อดีและข้อเสียของวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์กรดติกลูคูโรนิก

วิธีมาตรฐาน	ข้อดี	ข้อเสีย
High-Performance Liquid Chromatography	ทำการทดลองได้สะดวกและวิเคราะห์ได้รวดเร็ว	ราคาแพง และใช้ปริมาณสารตัวอย่างมาก
Mixed-Mode Liquid Chromatography	มีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์สูง มีความสะดวกในการใช้งาน	ราคาแพง และใช้เวลาในการวิเคราะห์และเตรียมสารนาน
Gas Chromatography-Mass Spectrometry	มีความแม่นยำ และความไวสูง	ราคาแพง และค่าใช้จ่ายในการบำรุงรักษาเครื่องสูง

จากตารางที่ 2.3 เป็นการเปรียบเทียบข้อดีและข้อเสียของวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์กรดติกลูคูโรนิกพบว่า แต่ละเทคนิคนั้นมีความสะดวก รวดเร็ว และมีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์สูง แต่มีราคาแพง ใช้ปริมาณสารตัวอย่างมาก มีค่าใช้จ่ายในการบำรุงรักษาเครื่องสูง และใช้เวลาการวิเคราะห์นาน ผู้วิจัยจึงได้ทำการพัฒนาวิธีวิเคราะห์กรดติกลูคูโรนิกขึ้นมาเพื่อลดต้นทุน เวลา และทำให้มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับวิธีมาตรฐาน

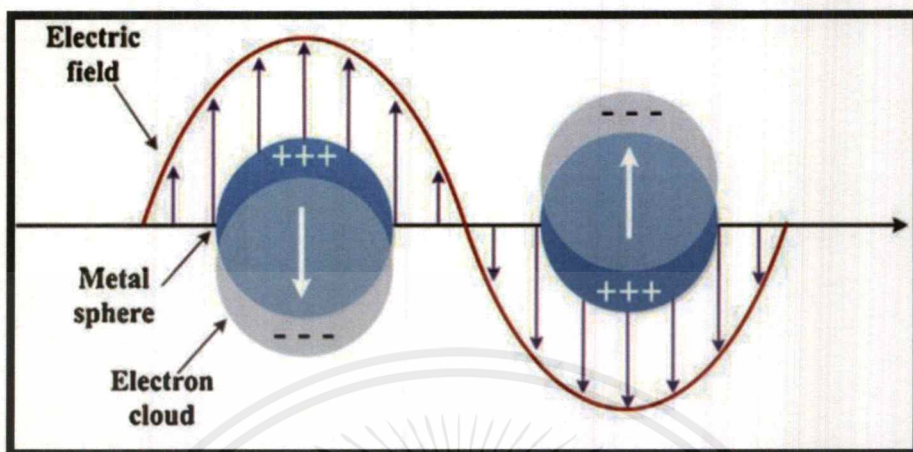
2.2 เซนเซอร์ทางแสง (Optical Sensor)

ปัจจุบันมีการนำเซนเซอร์ทางแสง [6] ไปประยุกต์สำหรับใช้งานด้านการวิเคราะห์อย่างมากมาย โดยอาศัยคุณสมบัติการเปลี่ยนแปลงทางแสงสามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภทคือ เซนเซอร์ที่อาศัยการเรืองแสง (Fluorogenic Sensor) เป็นวิธีที่มีความไวในการวิเคราะห์ แต่ต้องใช้เครื่องมือในการทำการวิเคราะห์ซึ่งมีความยุ่งยากในการตรวจวิเคราะห์สาร และอีกประเภทคือ เซนเซอร์ที่อาศัยการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย (Colorimetric Sensor) โดยวิธีนี้สามารถวัดได้โดยการสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายได้โดยตรง แสดงผลออกมาในรูปแบบสเปกตรัมการดูดกลืนแสงคือ สเปกตรัมการดูดกลืนแสงเลื่อนไปทางความยาวคลื่นที่มากขึ้น (Red Shift) และสเปกตรัมการดูดกลืนแสงเลื่อนไปทางความยาวคลื่นที่ลดลง (Blue Shift) [12]

2.2.1 ทฤษฎีเซอร์เฟซพลาสมอนเรโซแนนซ์ (Surface Plasmon Resonance, SPR)

SPR [13] คือปรากฏการณ์เชิงแสง ที่เกิดจากอันตรกิริยาของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าและอิเล็กตรอนที่อยู่ในโลหะระดับนาโน กล่าวคือเมื่อมีคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าจากภายนอกมาตกกระทบโลหะกลุ่มอิเล็กตรอนที่ถูกจำกัดอยู่ในอนุภาคระดับนาโนจะเกิดการสั่นรวม ซึ่งอันตรกิริยาที่แสงกระทำต่อโลหะจะเกิดได้สองแบบ คือ แสงจะตกกระทบและสะท้อนออกไปด้วยความยาวคลื่นเท่าเดิมทุกทิศทาง เรียกว่า การกระเจิง (Scattering) และในขณะเดียวกันบางโฟตอนจะถูกดูดกลืนและถูกเปลี่ยนไปเป็นพลังงานการสั่นซึ่งเรียกว่า การดูดกลืนแสง (Absorption) โดยทั่วไปแล้วโครงสร้างระดับนาโนของทองจะเกิดทั้งกระบวนการกระเจิงแสงและการดูดกลืนแสง ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้จะขึ้นอยู่กับขนาด

และรูปร่างของอนุภาคนาโน ผู้ทดลองจึงเลือกศึกษาเทคนิควิเคราะห์โดยอาศัยการสังเกตเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย และนำไปประยุกต์ใช้งานในการตรวจวัดสารตัวอย่าง เนื่องจากเป็นวิธีที่สะดวกและลดเวลาในการตรวจวัดได้

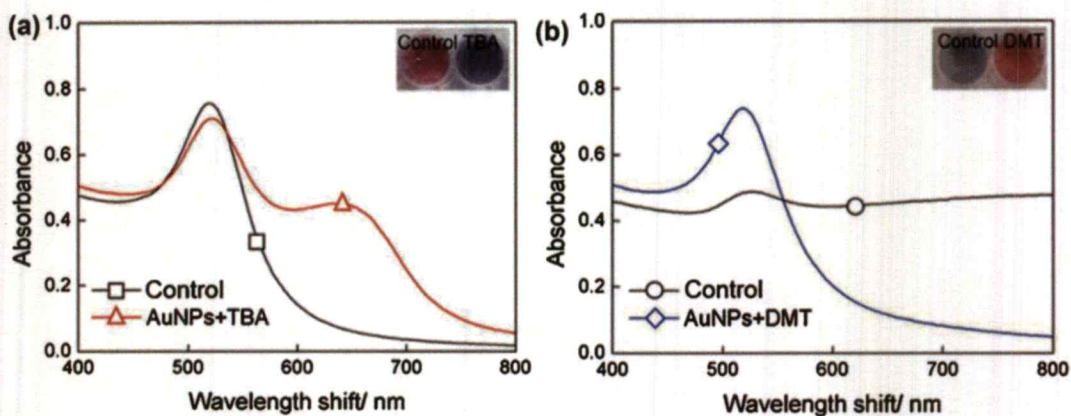


รูปที่ 2.3 การเกิดเซอร์เฟสพลาสมอนเรโซแนนซ์ (Surface Plasmon Resonance) [14]

2.2.2 อุปกรณ์และเครื่องมือที่นำมาทำเป็นเซนเซอร์

ก. วิธีการรับรู้เชิงสีโดยใช้อนุภาคทองระดับนาโนที่ถูกทำให้เสถียรภาพด้วยซิเตรทเพื่อตรวจวัดเทอบิวทิลลาซีน และไดเมทโทเรอเท (A Colorimetric Sensor Base on Citrate-Stabilized AuNPs for Rapid Pesticide Residue Detection of Terbutylazine and Dimethoate)

งานวิจัยนี้ศึกษาการตรวจวัดเทอบิวทิลลาซีน (TBA) และไดเมทโทเรอเท (DMT) โดยใช้อนุภาคทองระดับนาโนที่ถูกทำให้เสถียรภาพด้วยซิเตรท ซึ่ง นิงยี ฉิน และคณะ [15] ได้เห็นความรุนแรงของปัญหาของสารทั้งสองตัวนี้ ซึ่งได้นำมาถูกใช้มากในงานเกษตรกรรม ปัญหาหลักของสารสองตัวนี้คือ เป็นต้นเหตุของปัญหามลพิษสิ่งแวดล้อม และสารพิษปนเปื้อนในอาหาร จึงเป็นสาเหตุให้ต้องศึกษาและพัฒนาการตรวจวัดเทอบิวทิลลาซีน (TBA) และไดเมทโทเรอเท (DMT) โดยใช้อนุภาคทองระดับนาโนที่ถูกทำให้เสถียรภาพด้วยซิเตรท ในการทดลองได้สังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนโดยนำสารละลายเตตระคลอโรอโรเอท (HAuCl_4) ปริมาตร 5 mL ความเข้มข้น 5 mM พร้อมให้ความร้อนและปั่นกวนตลอดเวลา จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมซิเตรท ปริมาตร 2 mL แล้วสังเกตสีที่เปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีแดง จากนั้นตรวจวัด TBA ด้วยการเติม TBA ปริมาตร 100 μL และผสมกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 M ผสมในอุณหภูมิต้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที สีจะเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีน้ำเงิน และตรวจวัด DMT ด้วยการเติม DMT ปริมาตร 100 μL และผสมกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 M ผสมในอุณหภูมิต้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที จากนั้นนำไปตรวจวัดในเครื่องวิเคราะห์ UV-vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 520 nm ดังรูปที่ 2.4



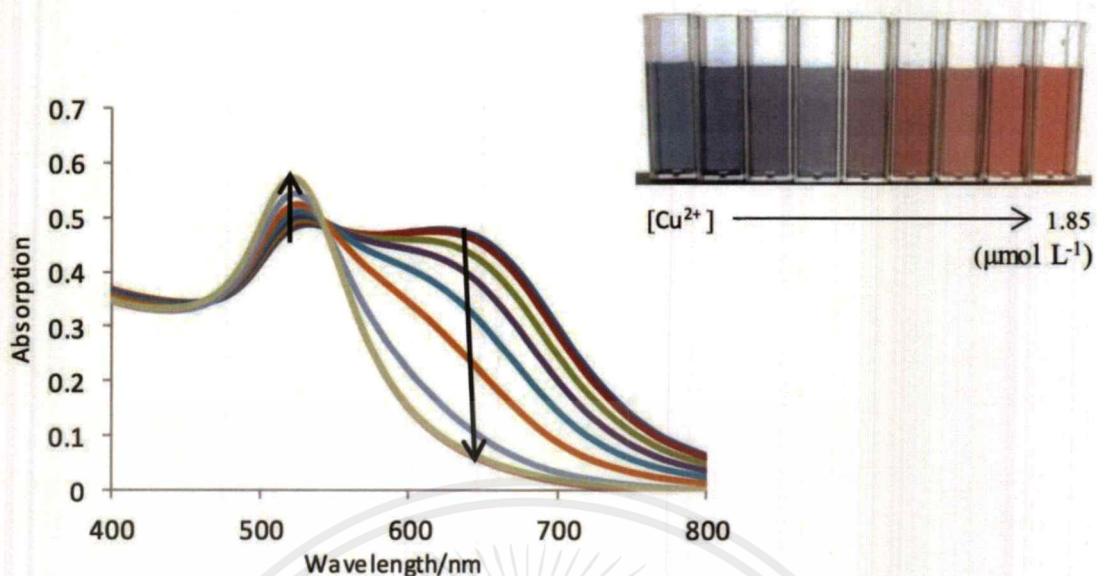
รูปที่ 2.4 (a) ค่าการดูดกลืนแสงของ AuNPs/TBA (b) ค่าการดูดกลืนแสงของ AuNPs/DMT ที่ความยาวคลื่น 520 nm

ผลการทดลองพบว่า สภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการทำงานวิจัยครั้งนี้ ควรใช้ HAuCl_4 5 mL, สารละลายโซเดียมซิเตรท ปริมาตร 2 mL ตัวอย่างสาร TBA ปริมาตร 100 μL ตัวอย่างสาร TBA ปริมาตร 100 μL โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 M และเวลาในการตรวจวัด TBA และ DMT คือ 1 ชั่วโมง 30 นาที ในงานวิจัยนี้สามารถตรวจวัด TBA และ DMT ได้ในช่วงความเข้มข้น 0.1-0.9 μM และ 1-40 nM ตามลำดับ มีค่าต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) ของ TBA และ DMT คือ 0.3 μM และ 20 nM ตามลำดับ ในงานวิจัยนี้เป็นวิธีที่ง่ายแต่ใช้เวลาค่อนข้างนาน

ข. เทคนิควิธีการตรวจวัดเชิงสีสำหรับการตรวจวัดปริมาณทองแดง ซึ่งอยู่บนพื้นฐานของการยับยั้งการรวมตัว (A Sensitive and Selective Colorimetric Method for Detection of Copper Ions Based on Anti-Aggregation of Unmodified Gold Nano particles)

งานวิจัยนี้ได้ทำเพื่อการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณทองแดงให้มีความไว และจำเพาะโดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์เชิงสี ซึ่งอยู่บนพื้นฐานของการยับยั้งการรวมตัวของดีเพนนิซิลามีน กับอนุภาคทองระดับนาโน ในงานวิจัยนี้ถูกพัฒนาโดย เอ็มอาร์ ฮอร์มอร์ซีเนสฮาด และเอส แอป บาสีโมยาด [16] เนื่องจากสารประกอบเชิงซ้อนทองแดงและดีเพนนิซิลามีนมีคุณสมบัติเป็นสารคีเลตที่มีความจำเพาะกับทองแดง ในการทดลองนี้สังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโน (AuNPs) โดยใช้สารละลายเตตระคลอโรอูเรท (HAuCl_4) ปริมาตร 45 mL ความเข้มข้น 1 mM เติมนลงในสารละลายโซเดียมซิเตรท ปริมาตร 5 mL ความเข้มข้น 38.8 mM จากนั้นปั่นกวนและให้ความร้อนเป็นเวลา 30 นาที โดยสังเกตจากสีที่จะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีม่วงแดง จากนั้นนำไปตรวจวัดในเครื่องวิเคราะห์ UV-vis Spectrophotometer ดูดกลืนความยาวคลื่น 520 nm และตรวจวัดทองแดงโดยการนำทองแดง ปริมาตร 2 mL ความเข้มข้น 0.02 M มาผสมกับดีเพนนิซิลามีน ปริมาตร 10 mL เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเติมอนุภาคทองระดับนาโน ปริมาตร 2 mL โดยสังเกตจากสีที่จะเปลี่ยนจากสีม่วงแดงเป็นสีเขียว จากนั้นนำไปตรวจวัดในเครื่องวิเคราะห์ UV-vis Spectrophotometer ที่ความยาว

คลื่น 520 nm ดังรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.5 ค่าการดูดกลืนแสงของสารประกอบเชิงซ้อนทองแดงและดีเพนนิซิลามีน ที่ความยาวคลื่น 520 nm

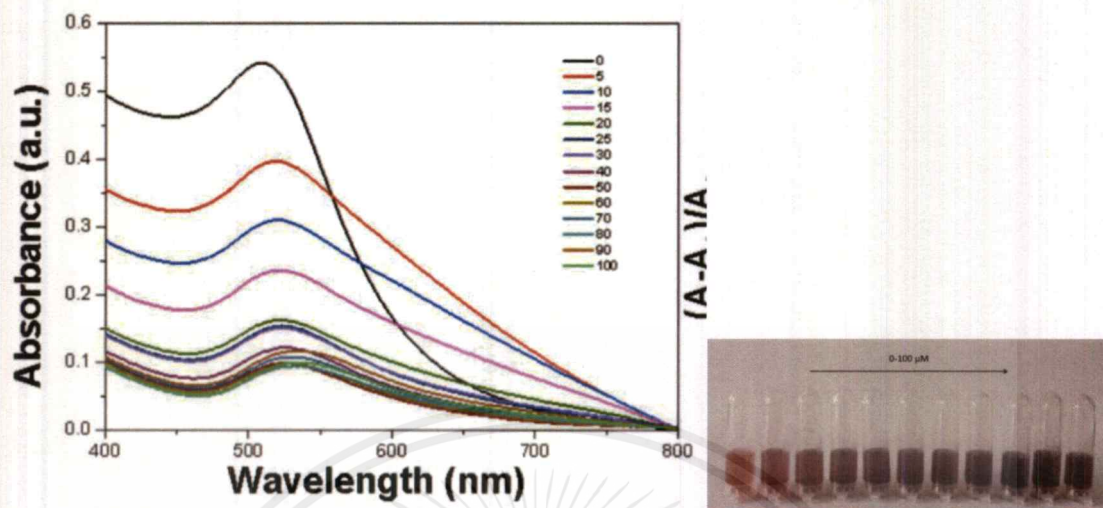
ผลการทดลองพบว่า สภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการทำงานวิจัยครั้งนี้ ควรใช้ HAuCl_4 45 mL สารละลายโซเดียมซิเตรท ปริมาตร 5 mL สารละลายทองแดง ปริมาตร 2 mL สารละลายดีเพนนิซิลามีน ปริมาตร 10 mL และ ค่าความเป็นกรดเบสที่ pH 7 ในงานวิจัยนี้สามารถตรวจวัด สารประกอบเชิงซ้อนทองแดงและดีเพนนิซิลามีน ได้ในช่วงความเข้มข้น 0.05-1.85 μM มีค่าต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) คือ 30 nM และค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ (% Recovery) มีค่าระหว่าง 85.33-109.47 % ซึ่งอยู่ในค่าที่ยอมรับได้

ค. การตรวจวัดฟลูออไรด์ที่รวดเร็วโดยใช้อนุภาคทองระดับนาโนที่ถูกทำให้เสถียรภาพด้วยกรดเมอแคปโทฟีนิลโบโรนิก และตรวจวัดด้วยวิธีการรับรู้เชิงสี (Colorimetric Sensor Based on 4-mercaptophenylboronic Modified Gold Nanoparticles for Rapid and Selective Detection of Fluoride Anion)

เฮาเจิน วู และคณะ [17] ได้ทำการศึกษาตัวรับรู้เชิงสีสำหรับการตรวจวัดฟลูออไรด์โดยใช้อนุภาคทองระดับนาโนที่ถูกทำให้เสถียรภาพด้วยกรดเมอแคปโทฟีนิลโบโรนิก (MPBA/AuNPs) เป็นโพรบ เนื่องจากถ้าร่างกายได้รับฟลูออไรด์มากเกินไปจะเกิดผลเสียโดยตรงกับฟัน กระเพาะอาหารและไต ในการทดลองนี้สังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนที่ถูกทำให้เสถียรภาพด้วยกรดเมอแคปโทฟีนิลโบโรนิก (MPBA/AuNPs) โดยใช้สารละลายเตตระคลอโรออเรท (HAuCl_4) ปริมาตร 1 mL และสารละลายกรดเมอแคปโทฟีนิลโบโรนิก ปริมาตร 100 μL เติมนลงในน้ำกลั่น ปริมาตร 10 mL จากนั้นปั่นกวนและให้ความร้อนเป็นเวลา 10 นาที โดยสังเกตจากสีที่จะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีแดง และไปตรวจวัดฟลูออไรด์ที่ความเข้มข้น 5 10 15 20 25 30 40 50 60 70 80 90 และ 100 μM จากนั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำไปตรวจวัดในเครื่องวิเคราะห์ UV-vis Spectrophotometer ดูดกลืนความยาวคลื่น 520 nm ดังรูปที่ 2.6

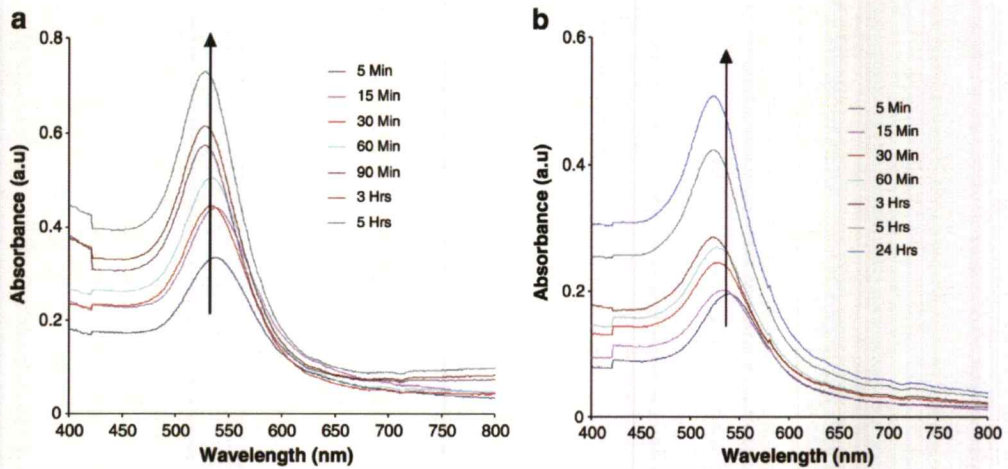


รูปที่ 2.6 ค่าการดูดกลืนแสงของตรวจวัดฟลูออไรด์ที่ความเข้มข้น 5-100 μM ที่ความยาวคลื่น 520 nm

ผลการทดลองพบว่า สภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการทำงานวิจัยครั้งนี้ ควรใช้ HAuCl_4 1 mL, สารละลายกรดเมอแคปโทพีนิลโบโรนิก ปริมาตร 100 μL และ น้ำกลั่น ปริมาตร 10 mL ในงานวิจัยนี้สามารถตรวจวัดฟลูออไรด์ ได้ในช่วงความเข้มข้น 0.0-30.0 μM มีค่าต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) คือ 0.345 μM และค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ (% Recovery) มีค่าระหว่าง 94.7-101.0% ซึ่งอยู่ในค่าที่ยอมรับได้

ง. การสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนที่ถูกต้องแปลงด้วยพอลิไวนิลไพโรลิโดน ด้วยเทคนิคยูวีไออาร์เรดิเอชัน (Synthesis of PVP Capped Gold Nanoparticles by the UV-Irradiation Technique)

งานวิจัยนี้ศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนที่ถูกต้องแปลงด้วยพอลิไวนิลไพโรลิโดน โดยใช้เทคนิคยูวีไออาร์เรดิเอชัน ซึ่ง มุนตเวนนโกซี เอ็ม ซิลลี และคณะ [18] ได้ทำการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนด้วยวิธีรีดักชันทางเคมี โดยใช้สารละลายเตตระคลอโรออเรท (HAuCl_4) 0.015 g และพอลิไวนิลไพโรลิโดน 0.750 g จากนั้นละลายด้วยน้ำกลั่น 200 mL โดยสารละลายที่ได้จะมีสีเหลือง แล้วจึงนำไปฉายแสง 25 W ภายใต้ชั้นบรรยากาศ ใช้เวลาฉายแสง 24 ชั่วโมงโดยที่ทุกๆ 5 นาทีจะนำสารละลายออกมาปั่นเหวี่ยง จะได้สารละลายสีแดง และในการสังเคราะห์ครั้งที่ 2 จะใช้อนุภาคทองระดับนาโน 0.045 g จากนั้นนำไปตรวจวัดในเครื่องวิเคราะห์ UV-vis Spectrophotometer ดูดกลืนความยาวคลื่น 530 nm ดังรูปที่ 2.7

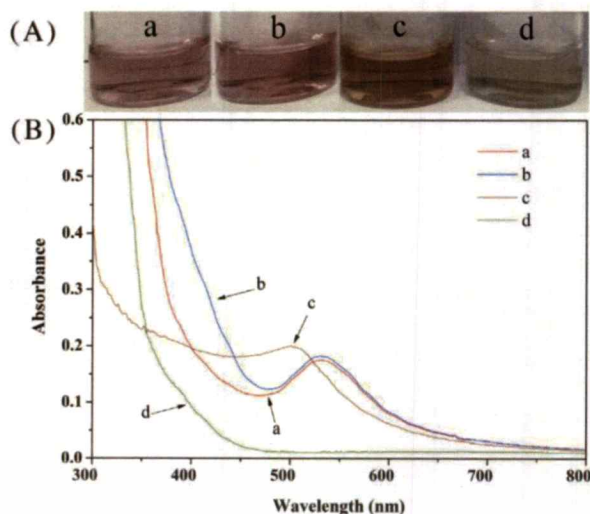


รูปที่ 2.7 (a) ค่าการดูดกลืนแสงของ HAuCl_4 0.015 g (b) ค่าการดูดกลืนแสงของ HAuCl_4 0.045 g ที่ความยาวคลื่น 530 nm

จากการศึกษาด้วยเทคนิคยูวีโอรเรดิเอชัน พบว่าเมื่อใช้เวลาในการฉายแสงมากขึ้น ค่าการดูดกลืนแสงก็มากขึ้นตาม และไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงที่ความเข้มข้นที่มากขึ้น โดยอนุภาคทองระดับนาโนมีลักษณะเป็นทั้งสามเหลี่ยมและหกเหลี่ยม

จ. การตรวจวัดปริมาณปรอทโดยใช้อนุภาคทองระดับนาโน และตรวจวัดด้วยวิธีการรับรู้เชิงสีที่เปลี่ยนแปลง 3 ชั้น จากสีแดงเป็นสีเบจและสีเขียว (Highly Selective, Colorimetric Detection of Hg^{2+} Based on Three Color Changes of AuNPs Solution from Red Through Sandy Beige to Celandine Green)

ยี่ หลิว และคณะ [19] ได้ทำการศึกษาตัวรับรู้เชิงสีสำหรับการตรวจวัดปริมาณปรอทโดยใช้อนุภาคทองระดับนาโน (AuNPs) เนื่องจากปรอทเป็นโลหะหนักที่มีความเป็นพิษมากที่สุด มีผลเสียต่อสมอง ตับ และไตโดยตรงถ้าได้รับสารปรอทมากเกินไป จึงเป็นสาเหตุที่ต้องพัฒนาการตรวจวัดปริมาณปรอท ในการทดลองนี้สังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโน (AuNPs) โดยใช้สารละลายเตตระคลอโรออเรท (HAuCl_4) ปริมาตร 121 mL ความเข้มข้น 3.1 mM เติมนลงในสารละลายโซเดียมซิเตรท ปริมาตร 10 mL ความเข้มข้น 30.6 mM จากนั้นปั่นกวนและให้ความร้อนเป็นเวลา 30 นาที โดยสังเกตจากสีที่จะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีม่วงแดง จากนั้นนำไปตรวจวัดในเครื่องวิเคราะห์ UV-vis Spectrophotometer ดูดกลืนความยาวคลื่น 520 nm และตรวจวัดสารปรอทโดยใช้กรดแอสคอบิก ปริมาตร 0.5 mL ความเข้มข้น 1.2-50.1 mM จากนั้นเติมอนุภาคทองระดับนาโน ปริมาตร 0.125-1.3 mL ความเข้มข้น 2.7 mM และสารตัวอย่างปรอท ปริมาตร 1 mL ความเข้มข้น 39.4-77.4 mM โดยสังเกตสีจะเปลี่ยนจากสีม่วงแดงเป็นสีเบจ จากนั้นเติมสาร SH-HPEI 0.3 mg/mL แล้วสีจะเปลี่ยนจากสีเบจเป็นสีเขียว จากนั้นนำไปตรวจวัดในเครื่องวิเคราะห์ UV-vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 525 nm ดังรูปที่ 2.8



รูปที่ 2.8 (A) สีการเปลี่ยนแปลง (B) ค่าการดูดกลืนแสงการตรวจวัดปริมาณปรอท ที่ความยาวคลื่น 530 nm (a) AuNPs (b) AuNPs/Hg²⁺ (c) AuNPs/Hg²⁺/AA (d) AuNPs/Hg²⁺/AA/SH-HPEI

ผลการทดลองพบว่า สภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการทำงานวิจัยครั้งนี้ ควรใช้ HAuCl₄ 121 mL ความเข้มข้น 3.1 mM, สารละลายโซเดียมซิเตรท ปริมาตร 10 mL ความเข้มข้น 30.6 mM, กรดแอสคอบิก ปริมาตร 0.5 mL ความเข้มข้น 1.2-50.1 mM, สาร SH-HPEI 0.3 mg/mL และ ค่าความเป็นกรดเบสที่ pH 7 ในงานวิจัยนี้สามารถตรวจวัดปริมาณปรอท ได้ในช่วงความเข้มข้น $8.76 \times 10^{-9} - 1.27 \times 10^{-4}$ M และมีค่าต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) คือ 8.76×10^{-9} M

2.3 อนุภาคทองระดับนาโน

อนุภาคทองระดับนาโนคือ อนุภาคนาโนที่มีเนื้อเป็นโลหะทองคำ ซึ่งได้จากการสังเคราะห์ทองโดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยารีดิวซ์ ทำให้อนุภาคทองระดับนาโนมีคุณสมบัติที่ดีขึ้น โดยมีความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีได้มากกว่าทองปกติ มีคุณสมบัติความเป็นแม่เหล็กมากขึ้น นำไฟฟ้าได้ดีขึ้น และมีความทนทานมากขึ้นอีกด้วย ซึ่งสามารถทำการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนได้ดังนี้

2.3.1 การสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโน

ในปัจจุบันนั้นได้มีการพัฒนาวิธีการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนขึ้นมามากมาย เพื่อให้ได้ขนาด และรูปร่างของอนุภาคทองระดับนาโนตามที่ต้องการ โดยในแต่ละวิธีการสังเคราะห์ก็จะมีขั้นตอนที่แตกต่างกันไปดังนี้

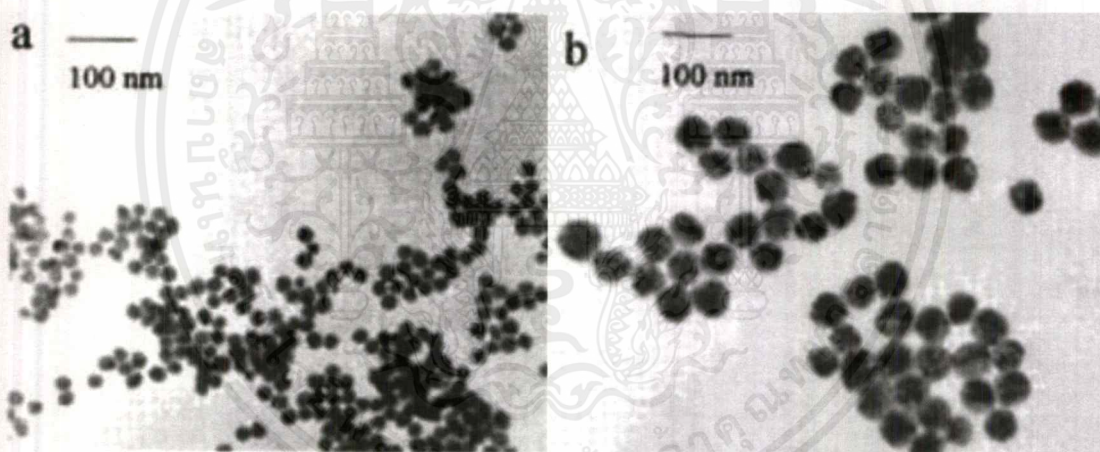
ก. วิธีรีดักชันทางเคมี (Chemical Reduction)

วิธีรีดักชันทางเคมี [20] คือ การเกิดปฏิกิริยาที่มีการรับอิเล็กตรอน โดยสารที่ทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอนเมื่อเกิดปฏิกิริยาจะมีเลขออกซิเดชันลดลงเรียกว่า การเกิดรีดักชัน เช่น ในการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนจะมีการเปลี่ยนแปลงจาก Au³⁺ เป็น Au⁰ ซึ่งค่าออกซิเดชันลดลงจาก +3 เป็น 0 กล่าวคือ ทองประจุบวกสามถูกรีดิวซ์กลายเป็นทองที่มีประจุเป็นกลางทางไฟฟ้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนด้วยวิธีเทอร์เควิช นั้นจะมีดำเนินการโดยใช้ไตรโซเดียมซิเตรททำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์และรักษาเสถียรภาพของทอง ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยารีดักชันกับเตตระคลอโรคลอโรอเลทไตรไฮเดรต และไตรโซเดียมซิเตรทจะเข้าไปแทนที่คลอไรด์ วิธีนี้มีข้อดีคือขนาดของอนุภาคที่ได้จะมีขนาดใกล้เคียงกัน

งานวิจัยของสตีเฟน ลิงค์และคณะ [21] ได้ทำการศึกษาขนาดและอุณหภูมิที่ขึ้นกับการดูดซับพลาสมอนของอนุภาคทองนาโนคอลลอยด์ขนาด 9 15 22 48 และ 99 nm โดยการนำสารละลายคลอโรอริกที่ได้จากการนำ Au ไปริฟลิกซ์ และสารละลายโซเดียมซิเตรทไปต้มจนสารละลายเดือด จะเกิดการรีดิวซ์ของทองโดยซิเตรทไอออนจะทำปฏิกิริยากับทองภายใน 5 นาที ในขณะที่สารละลายจะถูกต้มต่อไปอีก 30 นาทีแล้วปล่อยให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง ผลที่ได้คือ อนุภาคมีลักษณะเป็นทรงกลมที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยประมาณ 20 นาโนเมตร และถ้าต้องการทำให้อนุภาคมีขนาดใหญ่ขึ้นสามารถทำได้โดยการเติมไฮดรอกซีลามีนไฮโดรคลอไรด์เพื่อให้ปริมาตรทอง และถ้าต้องการทำให้ขนาดอนุภาคเล็กลงเฉลี่ยเท่ากับ 10 nm จะทำได้โดยการเติมเกลือของทองและโซเดียมซิเตรท และวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย UV-vis Spectrophotometer ส่วนขนาดของอนุภาคนั้นจะถูกวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) แสดงผลดังรูปที่ 2.9



รูปที่ 2.9 รูปภาพจากเครื่อง TEM ของ AuNPs (a) ขนาด 22 nm และ (b) ขนาด 48 nm

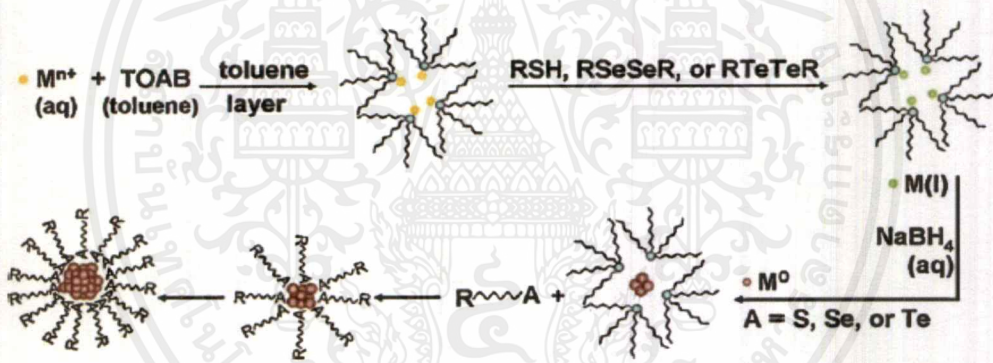
จากรูปที่ 2.9 นั้นแสดงให้เห็นขนาดของอนุภาคทองระดับนาโนที่สังเคราะห์ได้ในงานวิจัยนี้ โดย (a) จะมีขนาดอนุภาคอยู่ที่ 22 nm และ (b) มีขนาดของอนุภาคอยู่ที่ 48 nm โดยรูปร่างของอนุภาคนั้นมีรูปร่างใกล้เคียงทรงกลม และยังกระจายตัวกันได้ไม่ตึงเนื่องจากมีการเกาะกลุ่มกันของอนุภาค

ข. วิธีของบลัสต์และชิฟฟรอน (Brust- Schiffrin Method)

วิธีของบลัสต์และชิฟฟรอน [22] ถูกคิดค้นขึ้นเมื่อปี 1994 โดยจะแบ่งวิธีสังเคราะห์ออกเป็น 2 ภูมิภาค ซึ่งการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนจะเกิดขึ้นในตัวทำละลายอินทรีย์ ยกตัวอย่างเช่น โทลูอีนที่มีการผสมอัลคิลไทออล โดยใช้โซเดียมโบโรไฮไดรด์เป็นตัวรีดิวซ์และเตตระออกทิลแอมโม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนียมโบรไมด์ (Octylammonium Bromide, TOAB) ทำหน้าที่เป็นสารรักษาเสถียรภาพและสารเปลี่ยนวัฏภาค (Phase Transfer Agent) ทำให้สามารถสังเคราะห์อนุภาคของระดับนาโนที่มีขนาดเล็กกว่า 5 นาโนเมตรได้ ซึ่งกลไกการเกิดปฏิกิริยาของวิธีการสังเคราะห์คือ ไท-ออลจรีดิวซ์ Au (III) ไปเป็น Au (I) และก่อตัวเป็น $[AuSR]_n$ เหมือนพอลิเมอร์ตามสมการ $3RSH + AuCl_4^- \rightarrow AuSR + RSSR$ [59,60] ต่อมาเลนnox (Lennox) และคณะ [61] ได้แสดงให้เห็นว่าสปีชีส์ของโลหะตั้งต้นก่อนการเติมตัวรีดิวซ์จะอยู่ในรูปสารเชิงซ้อน $[TOA][AuX_2]$ ไม่ใช่ $[AuSR]_n$ เหมือนพอลิเมอร์ตามสมการ $[TOA][AuX_4] + 2RSH, [TOA][AuX_2] + RSSR + 2HX$ ต่อมา หลี่และคณะ [62] ได้อธิบายเกี่ยวกับกลไกการเกิดปฏิกิริยาที่สมบูรณ์ของบลิสต์และซิฟรอนไว้ว่า เมื่อทำการแยกวัฏภาคอินทรีย์ออกจากวัฏภาคที่มีไทออลผสม ในวัฏภาคนี้มีไมเซลของสารเชิงซ้อน $[TOA][AuX_2]$ อยู่ เมื่อทำการเติมโซเดียมโบโรไฮไดรด์ลงไปจะเกิดการรีดิวซ์ทำให้เกิดอนุภาคของระดับนาโนที่มีไมเซลของ $[TOA]$ ล้อมรอบอยู่ ต่อจากนั้นลิแกนด์ไทโอเลทที่เกิดจากปฏิกิริยารีดักชันของไดซัลไฟด์และไทออลที่ยังไม่ได้ทำปฏิกิริยาในตัวทำละลายอินทรีย์จะแพร่ผ่านชั้นไมเซล และเกิดพันธะ Au-S ทำให้ได้อนุภาคของระดับนาโนที่มีลิแกนด์รักษาเสถียรภาพดังรูปที่ 2.10



รูปที่ 2.10 กลไกการสังเคราะห์อนุภาคของระดับนาโนด้วยวิธีของบลิสต์และซิฟรอน

ข้อดีของวิธีการสังเคราะห์นี้คือการสังเคราะห์ที่สะดวกขึ้น สามารถทำได้ที่อุณหภูมิห้อง อนุภาคของระดับนาโนที่ได้มีความเสถียรต่อความร้อนและอากาศ สามารถทำการแยกหรือละลายซ้ำในตัวทำละลายอินทรีย์ได้โดยไม่เกิดการรวมตัวหรือเสียหายและสามารถใส่หมู่ฟังก์ชันได้ง่ายโดยใช้วิธีแทนที่ลิแกนด์ (Ligand Substitution)

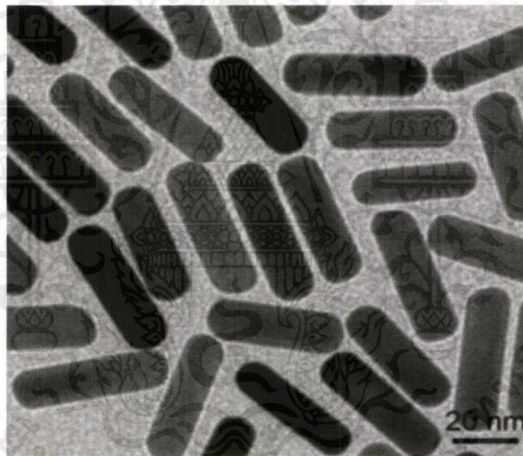
ค. วิธีการปลูกเมล็ด (Seed-Mediated Growth Method)

วิธีการปลูกเมล็ด เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการสังเคราะห์การควบคุมวัสดุนาโน วิธีนี้ถูกแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน ขั้นตอนแรกเป็นการเตรียมเมล็ดของอนุภาคของระดับนาโน ขั้นที่สองใส่เมล็ดที่ได้จากขั้นตอนแรกลงในสารละลายโพรทซึ่งประกอบด้วยเตตระคลอโร-ออเรท ตัวรีดิวซ์และสารรักษาเสถียรภาพ Au^0 ที่เกิดขึ้นใหม่จะเข้าไปรวมตัว บนผิวของซีดเพื่อทำให้เกิดอนุภาคที่มีขนาดใหญ่ขึ้น โดยตัวรีดิวซ์ที่ใช้ในขั้นตอนที่สองนั้นต้องเป็นสารที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ไม่แรงมาก เพื่อให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Au^0 ที่เกิดขึ้นใหม่สามารถรวมตัวกับซิงค์ได้เท่านั้น ไม่มีการเกิดนิวเคลียสของอนุภาคใหม่ ยิ่งไปกว่านั้น ด้วยการใช้ตัวรีดิวซ์ที่อ่อนทำให้ขั้นตอนที่สองเกิดช้ากว่าขั้นตอนแรกมาก แต่ด้วยข้อดีของวิธีการสังเคราะห์นี้คือสามารถควบคุมขนาดและรูปร่างได้ สามารถทำซ้ำเพื่อให้ได้ขนาดอนุภาคที่ใหญ่ขึ้นได้

งานวิจัยของหลี่หลิง [23] ใช้ Au Nanorods (AuNRs) เป็นเมล็ด เริ่มทำการสังเคราะห์โดยผสมสารละลายเตตระคลอโรคลอโรอเลทไฮเดรตผสมกับ CTAB และเตรียมสารละลาย $NaBH_4$ ผสมกับน้ำตามอัตราส่วนที่กำหนด แล้วจึงนำสารทั้งสองที่เตรียมไว้มาผสมกันแล้วทำการปั่นกวน สารละลายจะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีน้ำตาลเหลือง แล้วปั่นกวนต่ออีก 2 นาที จะได้สารละลายเมล็ดแล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเตรียมสารละลายโกรทโดยการนำ CTAB ผสมกับ 5-Bromosalicylic Acid (5-BrSA) แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำอุ่นที่อุณหภูมิ $60^{\circ}C$ แล้วจึงตั้งทิ้งไว้ให้เย็นรอจนอุณหภูมิลดลงเหลือ $30^{\circ}C$ แล้วจึงเติม $AgNO_3$ ลงไป รออีก 15 นาทีจึงเติมสารละลายทองเพิ่ม จากนั้นทำการปั่นกวนเป็นเวลา 15 นาทีแล้วเติม L-Ascorbic Acid (AA) ลงไปทำการปั่นกวนต่ออีก 30 วินาที สารละลายจะใสไม่มีสี จากนั้นทำการฉีดเมล็ด Au ลงไปในสารละลายโกรท ทำการปั่นกวนต่ออีก 30 วินาทีแล้วจึงเก็บไว้ที่อุณหภูมิ $30^{\circ}C$ เป็นเวลา 12 ชั่วโมง



รูปที่ 2.11 รูปจากเครื่อง TEM ของอนุภาคทองระดับนาโน

รูปที่ 2.11 เป็นรูปของอนุภาคทองระดับนาโนที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยวิธีการปลูกเมล็ด โดยรูปร่างของอนุภาคที่ได้จะมีลักษณะคล้ายเป็นแท่ง มีขนาดอนุภาคประมาณ 47.2 ± 2.9 และความยาวประมาณ 13.8 ± 1.0 nm

ง. การใช้วิธีเติมย้อนกลับ (Reverse Addition Method)

การใช้วิธีการเติมแบบย้อนกลับนี้เป็นวิธีที่ทำการดัดแปลงวิธีการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนของเทอร์ควิช โดยเดซี่ ฟิลลิปป์ [24] ทำการศึกษาวิธีการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโน 3 วิธี คือ การเติมสารละลายไฮโดรเจนเตตระคลอโรอเลทลงในสารละลายผสมของโซเดียมโบโรไฮไดรด์ที่เย็นกับ Polyethylene Glycol (PEG) จากนั้นทำการปั่นกวน สารละลายอนุภาคทองนาโนที่ได้จะมีขนาด 3-4 nm การเติมสารละลายผสมของไตรโซเดียมไซเตรท จะเติมแทนนิกแอซิดและโพแทสเซียม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

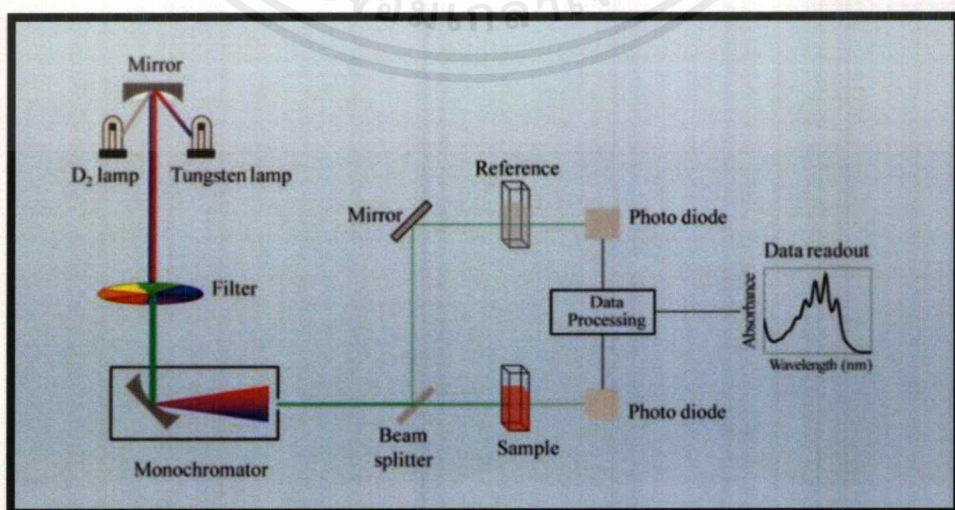
คาร์บอนทลงในสารละลายทอง โดยให้ความร้อนที่ 60°C และทำการปั่นกววน หลังจากนั้นจึงนำมาผสมกัน ผลที่ได้คือ อนุภาคทองระดับนาโนมีขนาด 6 nm และวิธีสุดท้ายทำการสังเคราะห์อนุภาคทองนาโนโดยใช้ไตรโซเดียมไซเตรทโดยการเปลี่ยนลำดับการเติมสาร ซึ่งจะเปลี่ยนจากการจากการเติมสารละลายไตรโซเดียมไซเตรทลงในสารละลายทองที่มีการให้ความร้อนจนถึงอุณหภูมิที่กำหนด เป็นการเติมสารละลายทองลงในสารละลายไตรโซเดียมไซเตรทที่มีการให้ความร้อนแทน และจะมีขนาดของอนุภาคทองระดับนาโน 9 nm

2.4 การพิสูจน์เอกลักษณ์ (Characterlization)

วิธีการตรวจวัดเชิงสีสำหรับการตรวจวัดกรดตึกลูคูโรนิกโดยใช้อนุภาคทองระดับนาโนได้ทำการพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิคต่างๆ ดังต่อไปนี้

2.4.1 ยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี (UV-vis Spectrophotometry)

เทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี [25] เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณแสงและค่า Intensity ในช่วงรังสียูวีและช่วงแสงขาวที่ทะลุผ่านหรือถูกดูดกลืนโดยตัวอย่างที่วางอยู่ในเครื่องมือ โดยที่ความยาวคลื่นแสงจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณและชนิดของสารที่อยู่ในตัวอย่างซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นสารอินทรีย์ สารประกอบเชิงซ้อนและสารอนินทรีย์ที่สามารถดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นเหล่านี้ได้ คุณสมบัติในการดูดกลืนแสงของสารเมื่อโมเลกุลของตัวอย่างถูกฉายด้วยแสงในช่วงรังสียูวีหรือแสงขาวที่มีพลังงานเหมาะสมจะทำให้อิเล็กตรอนภายในอะตอมเกิดการดูดกลืนแสงแล้วเปลี่ยนสถานะไปอยู่ในชั้นที่มีระดับพลังงานสูงกว่า เมื่อทำการวัดปริมาณของแสงที่ผ่านหรือสะท้อนมาจากตัวอย่างเทียบกับแสงจากแหล่งกำเนิดที่ความยาวคลื่นค่าต่างๆตามกฎของ Beer-Lambert ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ของสารจะแปรผันกับจำนวนโมเลกุลที่มีการดูดกลืนแสง ดังนั้นจึงสามารถใช้เทคนิคนี้ในระบุชนิดและปริมาณของสารต่างๆที่มีอยู่ในตัวอย่างได้

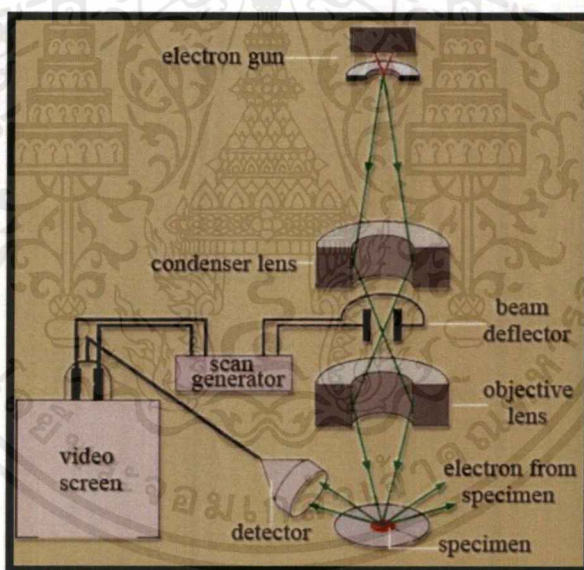


รูปที่ 2.12 ส่วนประกอบของเครื่อง UV-vis Spectrophotometer [26]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนักผู้ขาดเห็นาเบ้ใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission Electron Microscopy; TEM)

กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) [27] ใช้ลำแสงอิเล็กตรอนไฟฟ้าแรงสูงในการสร้างภาพลำแสงอิเล็กตรอนถูกผลิตโดยปืนอิเล็กตรอนที่ทั่วไปแล้วได้ติดตั้งแคโทดที่มีไส้หลอดเป็นทั้งสแตนเพื่อเป็นแหล่งที่มาของอิเล็กตรอน ลำแสงอิเล็กตรอนถูกเร่งความเร็วโดยขั้วบวกปกติที่ 100 กิโลอิเล็กตรอนโวลต์ (keV) (40-400 keV) เมื่อเทียบกับแคโทด จากนั้นลำแสงจะถูกโฟกัสโดยเลนส์ไฟฟ้าสถิต และคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าและส่องผ่านชิ้นงานที่มีบางส่วนของโปร่งใสกับอิเล็กตรอนและบางส่วนกระจายลำแสงออกไป เมื่อลำแสงอิเล็กตรอนผ่านพื้นออกมาจากชิ้นงานมันจะเก็บข้อมูลเกี่ยวกับโครงสร้างของชิ้นงานออกมาด้วยซึ่งจะมีการขยายโดยระบบเลนส์ใกล้วัตถุของกล้องจุลทรรศน์นั้น การเปลี่ยนแปลงเชิงพื้นที่ในข้อมูลนี้อาจสามารถดูได้โดยการฉายภาพอิเล็กตรอนที่ถูกขยายแล้วนี้ลงบนหน้าจอดูเรื่องแสงที่เคลือบด้วยวัสดุสารเรืองแสงหรือ Scintillator เช่นสังกะสีซิลไฟต์ หรืออีกทางเลือกหนึ่งภาพสามารถถูกบันทึกได้แบบการถ่ายรูปโดยการฉายแสงอิเล็กตรอนโดยตรงลงบนแผ่นฟิล์มถ่ายรูป



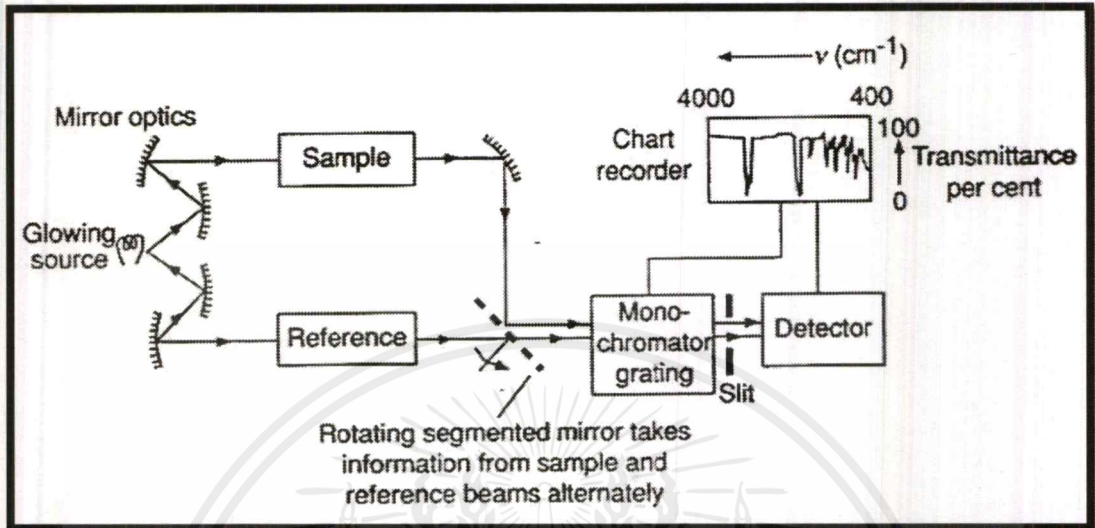
รูปที่ 2.13 ส่วนประกอบของเครื่อง TEM [28]

2.4.3 ฟูเรียร์ทรานฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (Fourier Transform Infrared Spectroscopy; FT-IR)

ฟูเรียร์ทรานฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี [29, 30] เป็นเครื่องมือที่ใช้สำหรับวิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันของสารประกอบอินทรีย์ โดยอาศัยหลักการของการดูดกลืนคลื่นรังสีช่วงกลางอินฟราเรด (Middle Infrared Region) ประมาณ $400-4000\text{ cm}^{-1}$ เมื่อโมเลกุลได้รับพลังงานจากคลื่นรังสีอินฟราเรดที่มีความถี่ตรงกับความถี่ของการสั่น (Stretching) หรือ การหมุน (Bending) ของพันธะโค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วาเลนซ์ในโมเลกุล จะทำให้โมเลกุลดังกล่าวเกิดการดูดกลืนแสง IR และมีการเปลี่ยนแปลงค่าโมเมนต์ขั้วคู่ (Dipole Moment) ของโมเลกุล จากนั้นเครื่องมือจะวัดค่าความเข้มแสงต่อความถี่หรือความยาวคลื่น (Wavenumber) ได้เป็นสเปกตรัมที่เรียกว่า “Interferogram” ซึ่งในแต่ละพันธะของหมู่ฟังก์ชันจะแสดงค่า ความยาวคลื่นเฉพาะต่างกัน



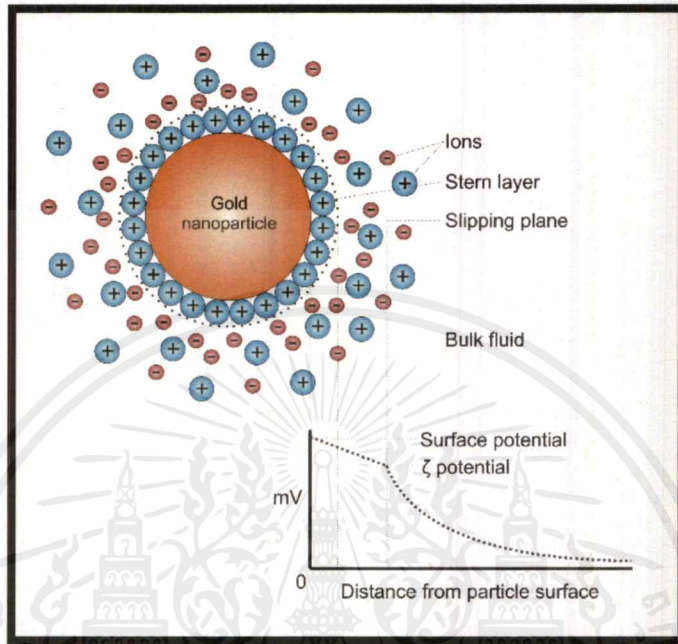
รูปที่ 2.14 การทำงานของเครื่อง FT-IR [31]

2.4.4 ศักย์ซีต้า (Zeta Potential)

Zeta Potential [32, 33] ใช้วัดความต่างศักย์ระหว่างศักย์ไฟฟ้าบริเวณพื้นผิวสเตอร์น (stern potential) กับศักย์ไฟฟ้าในชั้นสารละลายเป็นเทคนิควัดการกระเพื่อมของความเข้มแสง หรือเรียกว่า Photo Correlation Spectroscopy (PCS) ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้วัดขนาดตัวอย่างในระดับนาโน เมตรได้ตั้งแต่ 0.005 – 5 ไมโครเมตร สำหรับอนุภาคที่มีขนาดเล็กกว่า 5 ไมโครเมตรจะเกิดการแพร่กระจายอย่างไร้ทิศทาง (Randomly Diffuse) ไปทั่วตัวกลาง ในขณะที่เดียวกันอนุภาคสามารถก่อให้เกิดการกระเจิงของแสงได้เช่นกัน ความถี่ของการกระเพื่อมขึ้น-ลงสามารถตรวจจับโดยใช้หลอดทวีพลังแสง (Photomultiplier) ในขณะที่ขนาดของอนุภาคสามารถคำนวณได้จากความถี่โดยใช้สมการ สโตกส์ และไอสไตน์ (Stokes- Einstein Equation) ด้วยการหาค่าสัมประสิทธิ์การแพร่เลื่อนตำแหน่ง (Translational Diffusion Coefficient, DT) ของอนุภาค ซึ่งสัมพันธ์กับขนาดของอนุภาค (เส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ a) การเคลื่อนที่ของอนุภาคตลอดเวลาแบบบราวน์เนียน (Brownian) นี้ส่งผลกระทบต่อความเข้มของแสงที่กระเจิงจากอนุภาค อนุภาคขนาดใหญ่ซึ่งมีค่าสัมประสิทธิ์การแพร่เลื่อนตำแหน่ง (Translation Diffusion Coefficient) ต่ำ จะเคลื่อนที่ช้ากว่าอนุภาคขนาดเล็ก หรืออาจกล่าวได้ว่า อนุภาคขนาดใหญ่เคลื่อนที่ช้าทำให้เกิดการควมถี่ในการกระเพื่อมขึ้น-ลงของแสงที่กระเจิงต่ำ และ อนุภาคขนาดเล็กเคลื่อนที่ได้เร็วมีความถี่ในการกระเพื่อมของแสงที่กระเจิงสูงกว่า ดังนั้นอัตราการเปลี่ยนแปลงของแสงที่กระเจิงจะช้ากว่าสัญญาณที่ได้จากการวัดความเข้มแสงในช่วงระยะเวลาสั้น ๆ ของ อนุภาคขนาดเล็ก และความถี่ในการกระเพื่อมขึ้น-ลงของความเข้มแสงนี้จะถูก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาติให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่งไปยัง Correlator เพื่อ นำไปคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์การแพร่เลื่อนตำแหน่งและนำไปหาขนาดอนุภาค ข้อจำกัดของเทคนิคนี้คือ สารตัวอย่างต้องผ่านการเตรียมเพื่อให้ได้ความเข้มข้นที่เหมาะสม นอกจากนั้นเทคนิคนี้ยังต้องการความ สะอาดสูง เนื่องจากการป้องกันการรบกวนจากการกระเจิงของอนุภาคของสิ่งสกปรก



รูปที่ 2.15 ความต่างศักย์ระหว่างศักย์ไฟฟ้า [34]

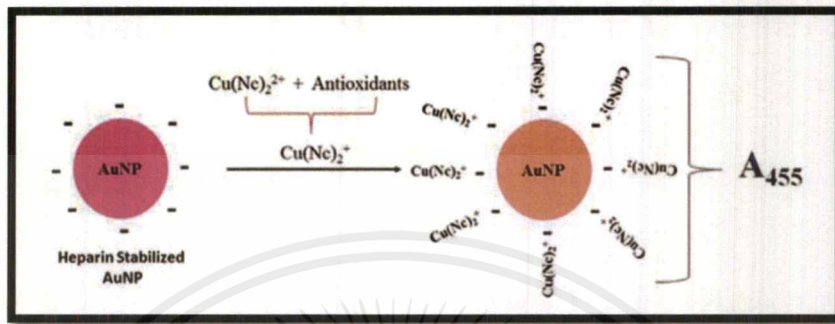
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.5.1 การตรวจวัดสารต้านอนุมูลอิสระ ด้วยอนุภาคทองระดับนาโนที่ถูกทำให้เสถียรด้วยเฮพาริน โดยใช้วิธีตัวรับรู้เชิงสี (Heparin-Stabilized Gold Nanoparticles-Based CUPRAC Colorimetric Sensor for Antioxidant Capacity Measurement)

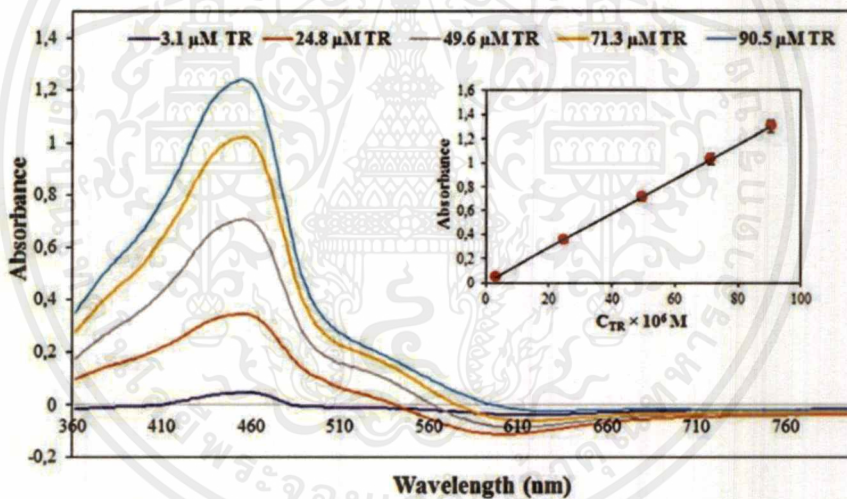
งานวิจัยนี้ศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนที่ถูกทำให้เสถียรด้วยเฮพาริน ในการตรวจวัดสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งมีสเตฟา เบนเนอร์ [35] ได้เล็งเห็นถึงความสำคัญของปัญหาของความเครียด ซึ่งถ้ามีความเครียดมากจะก่อให้เกิดความผิดปกติของสารในร่างกาย และจะเกิดปัญหาร้ายแรงตามมา เช่น โรคมะเร็ง หรือสุขภาพเสียได้ง่าย จึงเป็นสาเหตุให้ต้องศึกษาและพัฒนาการตรวจวัดสารต้านอนุมูลอิสระ ด้วยอนุภาคทองระดับนาโนที่ถูกทำให้เสถียรด้วยเฮพาริน โดยใช้วิธีตัวรับรู้เชิงสี (Heparin-stabilized gold nanoparticles-based CUPRAC colorimetric sensor for antioxidant capacity measurement) ในการทดลองได้สังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโน โดยนำ 0.0025% ของสารละลายเตตระคลอโรอโรเรท (HAuCl_4) ปริมาตร 90 mL พร้อมให้ความร้อนและปั่นกวนตลอดเวลา จากนั้นเติม 2% ของสารละลายเฮพาริน ปริมาตร 10 mL และให้ความร้อนและปั่นกวนต่อเป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที จากนั้นสีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีแดง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากนั้นหยุดให้ความร้อนแต่ยังคงปั่นกวนในอุณหภูมิห้องจนเย็น แล้วสามารถเก็บได้ในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นเตรียมตัวอย่างสารต้านอนุมูลอิสระ 0.1 mL ในน้ำ 0.2 mL แล้วทำให้เข้ากันในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเติมอนุภาคทองระดับนาโนที่ถูกทำให้เสถียรด้วยเฮพาริน 1.2 mL โดยสังเกตจากสีที่จะเปลี่ยนจากแดงไปเป็นสีน้ำเงิน และนำไปตรวจวัดในเครื่องวิเคราะห์ UV-vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 455 nm ดังรูปที่ 2.16



รูปที่ 2.16 แสดงการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนที่ถูกทำให้เสถียรด้วยเฮพารินในการตรวจวัดสารต้านอนุมูลอิสระ

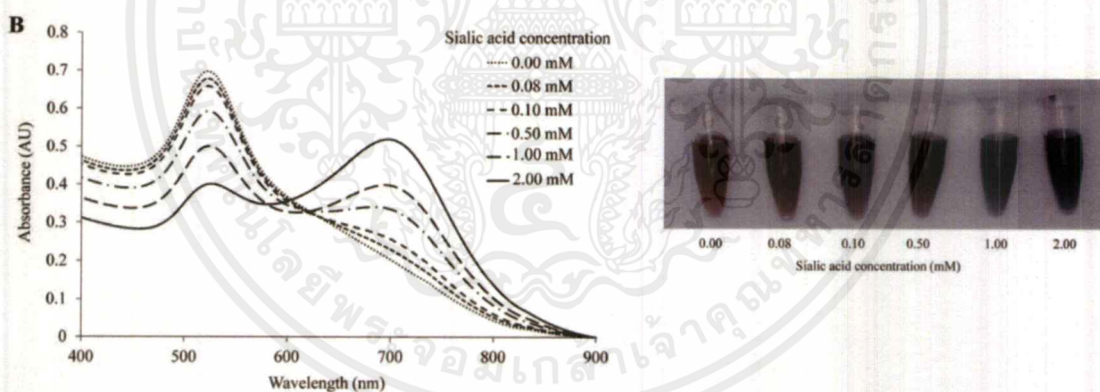


รูปที่ 2.17 ค่าการดูดกลืนแสงของ Cu (I)-Nc-AuNP ที่ความเข้มข้น 3.1 24.8 49.6 71.3 และ 90.5 μM

ผลการทดลองพบว่า สภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการทำงานวิจัยครั้งนี้ ควรใช้ HAuCl_4 90 mL สารละลายเฮพาริน 2% 10 mL ตัวอย่างสารต้านอนุมูลอิสระ 0.1 mL อนุภาคทองระดับนาโนที่ถูกทำให้เสถียรด้วยเฮพาริน 1.2 mL ระดับ pH ที่ 7 และเวลาในการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนที่ถูกทำให้เสถียรด้วยเฮพาริน คือ 1 ชั่วโมง 30 นาที โดยสีของสารละลายที่ตรวจวัดจะเปลี่ยนจากสีแดงเป็นน้ำเงิน ในงานวิจัยนี้สามารถตรวจวัดได้ในช่วงความเข้มข้น 3.1-90.5 μM มีค่าต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) คือ 0.19 μM ในงานวิจัยนี้เป็นวิธีที่ง่ายแต่ใช้เวลาค่อนข้างนาน

2.5.2 การตรวจวัดด้วยวิธีการรับรู้เชิงสีสำหรับการตรวจวัดกรดไซอะลิก ด้วยทองอนุภาคระดับนาโนฟังก์ชันด้วยกรดเมอแคปโทฟีนิลโบโรนิก (4-Mercaptophenylboronic Acid Functionalized Gold Nanoparticles for Colorimetric Sialic Acid Detection)

สุภาณี สันค้อ และคณะ [36] ได้ศึกษาการตรวจวัดกรดไซอะลิก เนื่องจากกรดไซอะลิกมีผลอันตรายต่อสุขภาพโดยตรงทางเลือดและเนื้อเยื่อ รวมทั้งเป็นแหล่งก่อให้เกิดโรคมะเร็งได้ โดยในงานวิจัยนี้พัฒนาการตรวจวัดกรดไซอะลิกด้วยอนุภาคทองระดับนาโนฟังก์ชันด้วยกรดเมอแคปโทฟีนิลโบโรนิก โดยการตรวจจากการรับรู้เชิงสี (4-Mercaptophenylboronic Acid Functionalized Gold Nanoparticles for Colorimetric Sialic Acid Detection) งานวิจัยนี้สังเคราะห์ทองอนุภาคทองระดับนาโนโดยนำสารละลายเตตระคลอโรอโรเรท (HAuCl_4) ปริมาตร 64 μL ใส่ในน้ำกรองบริสุทธิ์ต้ม ปริมาตร 200 mL จากนั้นเติม 5%w/v ของโซเดียมซิเตรท ปริมาตร 4 mL อย่างรวดเร็ว จากนั้นให้ความร้อน 10 นาที จากนั้นหยุดให้ความร้อนแล้วปั่นกวนต่ออีก 15 นาที สีของสารละลายจะเปลี่ยนจากเหลืองเป็นสีไวน์แดง ทั้งสารละลายให้เย็นจากนั้นสามารถเก็บสารในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นเตรียมกรดเมอแคปโทฟีนิลโบโรนิก 3.6 mL ลงในอนุภาคทองระดับนาโน (AuNPs) ปริมาตร 180 mL ที่ถูกปรับให้เป็น pH 11 และนำไปเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 7500 รอบต่อนาที ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นนำไปใช้ตรวจวัดกรดไซอะลิกโดยวิธีตรวจวัดในเครื่องวิเคราะห์ UV-vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 600-800 nm ดังรูปที่ 2.18



รูปที่ 2.18 ค่าการดูดกลืนแสงของกรดไซอะลิกที่ความเข้มข้น 0.00 0.08 0.10 0.50 1.00 และ 2.00 mM

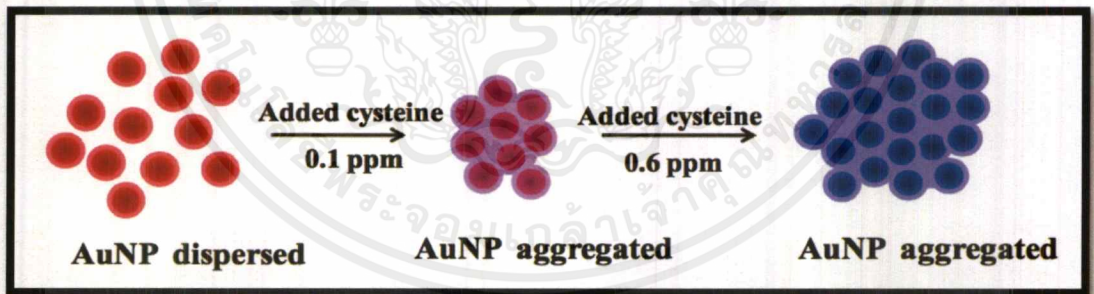
ผลการทดลองพบว่า สภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการทำงานวิจัยครั้งนี้ ควรใช้ HAuCl_4 ปริมาตร 64 μL 5%w/v ของโซเดียมซิเตรท ปริมาตร 4 mL กรดเมอแคปโทฟีนิลโบโรนิก 3.6 mL AuNPs pH 11 ปริมาตร 180 mL เวลาในการปั่นเหวี่ยง 12 ชั่วโมง ด้วยความเร็ว 7500 รอบต่อนาที ในอุณหภูมิห้อง และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 และ 523 nm สีของสารละลายที่ได้จะค่อยๆเปลี่ยนสีตามความเข้มข้นของกรดไซอะลิกจากสีแดงที่ความเข้มข้นต่ำที่สุด เมื่อความเข้มข้นมากขึ้นจะเปลี่ยนเป็นสีม่วงและเป็นสีน้ำเงินเมื่อมีความเข้มข้นมากที่สุด เนื่องจากเกิดการรวมตัวกันของกรดไซอะลิกและอนุภาคทองระดับนาโน ในงานวิจัยนี้สามารถตรวจวัดได้ในช่วงความเข้มข้น 80-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

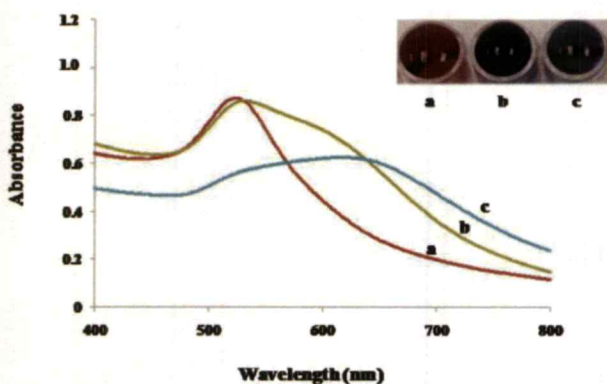
3000 μM มีค่าต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) คือ 68 μM และเวลาวิเคราะห์ 10 นาที ในงานวิจัยนี้เป็นวิธีที่ง่าย ใช้เวลาเร็ว และมีความแม่นยำ

2.5.3 ตัวรับรู้เชิงสีสำหรับการตรวจวัดซิสเตอีนโดยการใช้อนุภาคทองระดับนาโน (Gold Nanoparticles-Based Colorimetric Sensor for Cysteine Detection)

สุริยา จงจินากุล และคณะ [37] ได้ทำการศึกษาตัวรับรู้เชิงสีสำหรับการตรวจวัดซิสเตอีนโดยใช้อนุภาคทองระดับนาโน (AuNPs) เป็นโพรบ เนื่องจากซิสเตอีนเป็นกรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น และสามารถพบได้ทั่วไปทั้งในอาหาร และในธรรมชาติ ซึ่งถ้าร่างกายได้รับซิสเตอีนมากเกินไปจะทำให้เกิดผลเสียมากมาย เช่น ทำให้ผมยาวช้าลง รวมถึงทำลายตับ และกล้ามเนื้อ ทำให้อ่อนแรงลง ในการสังเคราะห์ AuNPs จะใช้ซิเตรทแอนไอออนเป็นสารรักษาเสถียรภาพเพื่อป้องกัน การรวมตัวกันของ AuNPs โดยใช้สารละลายเตตระคลอโรอูเรท (HAuCl_4) ปริมาตร 153 μL เติมลงในสารละลายโซเดียมซิเตรท ปริมาตร 500 mL จากนั้นปั่นกวนและให้ความร้อน โดยสังเกตจากสีที่จะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีม่วงแดง จากนั้นเติมสารละลายซิสเตอีนที่มีความเข้มข้น 0.1-1.0 ppm 1,800 μL ลงไปในสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนเพื่อทำการตรวจวัด โดยรอให้ปฏิกิริยาสิ้นสุดเป็นเวลา 3 นาที สารละลายจะเปลี่ยนสีตามเข้มข้นโดยค่อยๆเปลี่ยนจากสีแดงที่ความเข้มข้น 0.1-0.2 ppm เป็นสีม่วงที่ ความเข้มข้น 0.4-0.6 ppm และเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินที่ความเข้มข้น 0.8-1.0 ppm เนื่องจากซิสเตอีน เหนี่ยวนำให้อนุภาคเกิดการรวมตัว สารละลายจึงเปลี่ยนสี จากนั้นนำไปใช้ตรวจวัดซิสเตอีนโดยวิธีตรวจวัดในเครื่องวิเคราะห์ UV-vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 400-800 nm ดังรูปที่ 2.19



รูปที่ 2.19 ขั้นตอนการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนและการตรวจวัดซิสเตอีน



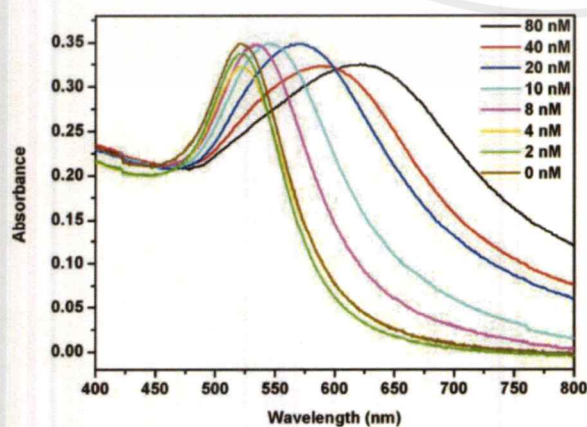
รูปที่ 2.20 ค่าการดูดกลืนแสงของซิสเตอีนที่ความเข้มข้น (a) 0.1 ppm (b) 0.5 ppm (c) 1.5 ppm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองพบว่า สภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการทำงานวิจัยครั้งนี้ ควรใช้ HAuCl_4 ปริมาตร 153 μL โซเดียมซิเตรทปริมาตร 500 mL เวลาที่ใช้คือ 3 นาที ระดับค่า pH 4 และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 615 และ 520 nm เมื่อเติมซิเตรดอินที่ความเข้มข้น 0.1 0.5 และ 1.5 ppm ตามลำดับสารละลายที่ได้จะให้สีแดง สีม่วง และสีน้ำเงิน ตามลำดับ เนื่องจากเกิดการรวมตัวกันของซิเตรดอินและทอง โดยงานวิจัยนี้สามารถตรวจวัดซิเตรดอินได้ที่ ช่วงความเข้มข้น 0.1-0.6 ppm และมี LOD เท่ากับ 0.01 ppm ในงานวิจัยนี้เป็นวิธีที่ราคาถูก ใช้เวลาวิเคราะห์น้อย และมีความแม่นยำ

2.5.4 การตรวจวัดการเจริญเติบโตของเกล็ดเลือดโดยใช้อนุภาคทองระดับนาโนเป็นตัวรับรู้เชิงสี (AuNPs Colorimetric Sensor for Detecting Platelet-Derived Growth Factor-BB Based on Isothermal Target-Triggering Strand Displacement Amplification)

ฮุย จาง และคณะ [38] ได้ทำการพัฒนาตัวรับรู้เชิงสีโดยใช้อนุภาคทองระดับนาโนสำหรับตรวจหา ปัจจัยในการเจริญเติบโตของเกล็ดเลือด (PDGF-BB) ซึ่ง PDGF-BB คือชนิดหนึ่งของโปรตีนมะเร็ง และสามารถเติบโตจนกลายเป็นเนื้องอกได้ โดยใช้โพรบอนุภาคทองระดับนาโนฟังก์ชันด้วยดีเอ็นเอ ใช้สารละลายเตตระคลอโรออเรท (HAuCl_4) ความเข้มข้น 1 mM ปริมาตร 50 mL ให้ความร้อนพร้อมปั่นกววน จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมซิเตรท ความเข้มข้น 38.8 mM ปริมาตร 5 mL ลงไปอย่างรวดเร็ว สีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีไวน์แดง จากนั้นเติม สารดีเอ็นเอ 1 และ 2 ความเข้มข้น 2.7 nmol และปรับให้เป็น pH 7 จากนั้นนำไปเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 12000 รอบต่อนาที ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 25 นาที จะได้โพรบอนุภาคทองระดับนาโนฟังก์ชันด้วยดีเอ็นเอ (DNA-AuNPs) โดยโพรบ DNA-AuNPs จะถูกแบ่งออกเป็นเกลียวสามเกลียว และหลังจากนั้น oligonucleotides จะมีจำนวนเพิ่มขึ้นเป็นอย่างมากเนื่องจากถูกผลิตโดย SDA และจะใช้ DNA-AuNPs ในการตรวจวัด Oligonucleotides เพื่อตรวจหา PDGF-BB โดยนำไปใช้ตรวจวัด PDGF-BB ด้วยการใช้เครื่องวิเคราะห์ UV-vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 400-800 nm ดังรูปที่ 2.21



รูปที่ 2.21 ค่าการดูดกลืนแสงของ PDGF-BB ที่ความเข้มข้น 0 2 4 8 10 20 40 และ 80 nM

ผลการทดลองพบว่า สภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการทำงานวิจัยครั้งนี้ ควรใช้ HAuCl_4 ความเข้มข้น 1 mM ปริมาตร 50 mL โซเดียมซิเตรท ความเข้มข้น 38.8 mM ปริมาตร 5 mL ระดับค่า pH 7 เวลาในการปั่นเหวี่ยง 25 นาที ความเร็ว 12000 รอบต่อนาที ในอุณหภูมิห้อง และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 และ 525 nm ซึ่งในงานวิจัยนี้มีช่วงความเข้มข้นในการตรวจวัดคือ 2-80 nM มี LOD เท่ากับ 1.1 nM ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม และสารละลาย AuNPs จะเปลี่ยนสีก็ต่อเมื่อ PDGF-BB มีความเข้มข้นเพียง 4 nM ในงานวิจัยนี้มีความแม่นยำ

2.5.5 การวิเคราะห์อย่างรวดเร็วหาสารตัวเร่งชีวภาพของกรดกลูคาร์ริก โดยใช้โครมาโทกราฟีของเหลววิธีแบบผสม (Mixed-Mode Liquid Chromatography for the Rapid Analysis of Biocatalytic Glucaric Acid Reaction Pathways)

เคอร์สตัน เบ็ตร และคณะ [39] ได้เห็นความสำคัญของกรดกลูคาร์ริก ที่เป็น 1 ใน 10 ของสารชีวเคมีที่มีความสามารถในการแทนที่ของสารเคมีที่มีน้ำมันเป็นองค์ประกอบหลัก และสามารถพบได้ทั้งในยีสต์และแบคทีเรีย จึงได้พัฒนาวิธีการตรวจวัดและวิเคราะห์ โดยใช้วิธี Mixed-Mode Liquid Chromatography (MM HILIC) และ Weak Anion Exchange Chromatography (WAX) ควบคู่กับ HPLC (RID) วิธีทำโดยการเตรียมตัวอย่างผสมของแบคทีเรียในอีโคไลกับคาเบนนิซิลลิน 50 mg/ml ในอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และปั่นเหวี่ยงด้วยแรงเหวี่ยงที่ 250 รอบต่อนาที จากนั้นเติม Isopropyl β -D-Thiogalactoside (IPTG) 0.4 mM แล้วแช่เย็นที่อุณหภูมิ 16 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 ชั่วโมง จากนั้นไปปั่นเหวี่ยงด้วยแรงเหวี่ยงที่ 4000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปตรวจวัดโดยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลววิธีแบบผสม แสดงผลดังตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 ตารางแสดงผลของการวิเคราะห์ตัวอย่างต่างๆของวิธี UHPLC-RID

Compound	R ²	Calibrated	LOD		LOQ		Retention Time	Peak Area RSD (%)
		Range	mM	g L ⁻¹	mM	g L ⁻¹		
		mM	mM	g L ⁻¹	mM	g L ⁻¹		
Ino	0.991	5-40	1.5	0.3	5.0	0.9	2.75	1.84
GA	0.996	5-40	1.5	0.3	5.0	1.0	5.04	3.1
GIP	0.997	5-40	1.5	0.4	5.0	1.3	5.67	3.2
G6P	0.998	5-40	1.5	0.3	5.0	1.0	6.32	3.9
I1P	0.996	5-40	1.5	0.4	5.0	1.3	7.55	7.9
GlucA	0.993	5-40	2.0	0.4	5.0	1.5	8.26	11.4

ผลการทดลองพบว่า สภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการทำงานวิจัยครั้งนี้ ควรใช้ตัวอย่างผสมของแบคทีเรียในอีโคไลกับคาเบนนิซิลลิน 50 mg/ml Isopropyl β -D-Thiogalactoside (IPTG) 0.4 mM ปั่นเหวี่ยงด้วยแรงเหวี่ยงที่ 4000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำไปตรวจวัดโดยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลววิธีแบบผสม ซึ่งเทคนิคที่พัฒนาขึ้นเป็นวิธีการที่ง่าย แต่ขั้นตอนการเพาะสารอาจจะมีหลายขั้นตอนทำให้ยากขึ้นในการเตรียมสาร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

วิธีการดำเนินงานวิจัยขั้นนี้ได้แบ่งขั้นตอนการวิจัยออกเป็น 3 ขั้นตอนหลักดังต่อไปนี้
ขั้นตอนที่ 1 คือ การสังเคราะห์อนุภาคของระดับนาโนโดยวิธีเทอร์ควิช และการปรับปรุงสภาพพื้นผิวของอนุภาคของระดับนาโนด้วยโพลิไดแอลลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ ขั้นตอนที่ 2 คือ การศึกษาปัจจัยต่างๆที่ส่งผลต่อการรับรู้ และตรวจวัดของอนุภาคของระดับนาโนในการวิเคราะห์สารละลายกรดติกลูโคโรนิก ซึ่งมีการศึกษาความเป็นเส้นตรง การศึกษาเวลาที่เหมาะสม และการศึกษาระดับ pH ที่เหมาะสม และขั้นตอนสุดท้าย ขั้นตอนที่ 3 การศึกษาตัวแปรทางเคมีวิเคราะห์ คือ ค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด ค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ ค่าร้อยละการคืนกลับ และค่าความเที่ยง

3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. บีกเกอร์ (Beaker)
2. ขวดปรับปริมาตร (Volumetric Flask)
3. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer Flask)
4. ปิเปต (Pipette)
5. เครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้าและให้ความร้อน (Magnetic Stirrer and Hot Plate)
6. เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer)
7. ช้อนตักสาร (Spatula)
8. ขวดเก็บสาร
9. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
10. ไมโครปิเปตขนาด 1000 μL รุ่น SL-1000XLS ผลิตโดยบริษัท Rainin, USA (Micropipet)

3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

เครื่องมือ	รุ่นของเครื่องมือ	บริษัทที่ผลิต	ประเทศที่ผลิต
เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (UV-vis Spectrophotometer)	UV-1800	Shimadzu	ญี่ปุ่น
เครื่องวัดศักย์ซีต้า (Zeta Potential Analysis)	Zetasizer NanoZs	Malvern	อังกฤษ
เครื่องมือวิเคราะห์สารด้วยอินฟราเรด (FTIR)	IRTracer-100	Shimadzu	ญี่ปุ่น
กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM)	TECNAI G2 20	FEI	สหรัฐอเมริกา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

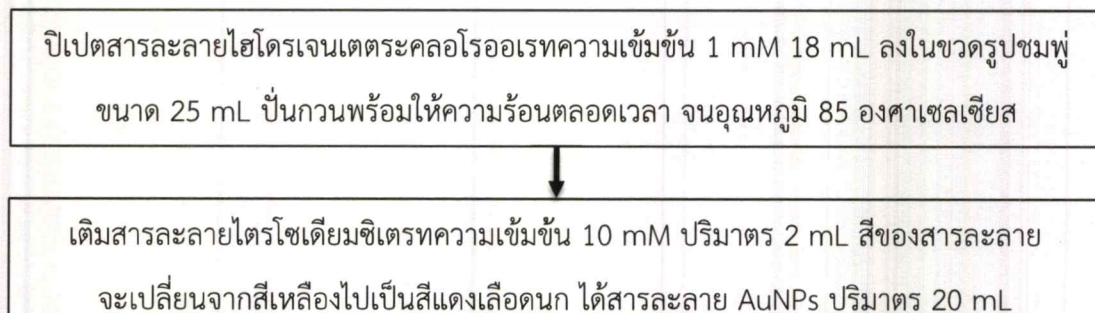
3.3 สารเคมี

สารเคมี	สูตรโครงสร้าง	บริษัทที่ผลิต
เตตระคลอโรอโรเรทไตรไฮเดรต (Gold (III) Chloride Trihydrate)	$\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	Sigma-Aldrich
โซเดียมซิเตรทไตรเบสิกไดไฮเดรต (Sodium Citrate Tribasic Dihydrate)	$\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Sigma-Aldrich
โพลีไดแอลลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ (Poly (diallyldimethylammoniumchloride))	$(\text{C}_8\text{H}_{16}\text{ClN})_n$	Sigma-Aldrich
ดีกลูคูโรนิกแอซิดโซเดียมซอลต์โมโนไฮเดรต (D-Glucuronic Acid Sodium Salt Monohydrate)	$\text{C}_6\text{H}_9\text{NaO}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Merck KGaA
กรดไนตริก (Nitric acid)	HNO_3	CARLO ERBA reagent
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium Hydroxide)	NaOH	CARLO ERBA reagent

3.4 การสังเคราะห์อนุภาคทองคำระดับนาโนโดยวิธีเทอร์เควิช (Turkevich Method)

3.4.1 การหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายไตรโซเดียมซิเตรทสำหรับการสังเคราะห์อนุภาคทองคำระดับนาโน

เตรียมสารละลายไฮโดรเจนเตตระคลอโรอโรเรทความเข้มข้น 1 mM จากนั้นปิเปตสารละลายไฮโดรเจนเตตระคลอโรอโรเรทมาปริมาตร 18 mL ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 25 mL แล้วนำไปปั่นกวนพร้อมให้ความร้อนตลอดเวลา จนอุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส จึงนำสารละลายไตรโซเดียมซิเตรทความเข้มข้น 10 15 20 และ 30 mM ปริมาตร 2 mL เติมลงไปทีละความเข้มข้นตามลำดับ โดยสังเกตจากสีของสารละลาย สีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีเหลืองไปเป็นสีแดงเลือดนก ซึ่งสามารถแสดงขั้นตอนการสังเคราะห์ดังรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 แผนผังวิธีการสังเคราะห์ AuNPs ด้วยไตรโซเดียมซิเตรทความเข้มข้น 10 15 20 และ 30 mM

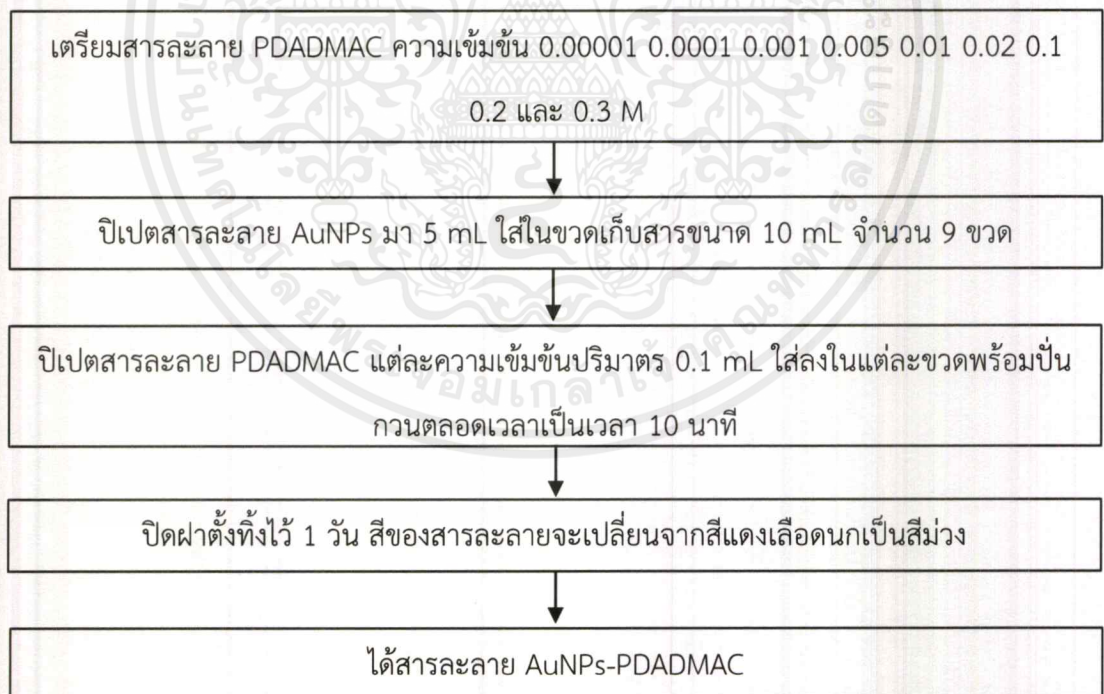
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยทำการศึกษาตัวแปรดังต่อไปนี้

ลำดับ	ตัวแปร	การวิเคราะห์
1	ศึกษาผลของการดูดกลืนแสงของ AuNPs-PDADMAC	UV-vis Spectrophotometry
2	ศึกษาสภาพความเป็นประจุของ AuNPs-PDADMAC	Zeta Potential
3	ศึกษารูปร่างและขนาดของ AuNPs-PDADMAC	TEM
4	ศึกษาหมู่ฟังก์ชันของ AuNPs-PDADMAC	FT-IR

3.4.2 การหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพลีไดแอลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์สำหรับการปรับปรุงสภาพพื้นผิวของอนุภาคทองระดับนาโน

เตรียมสารละลาย PDADMAC ความเข้มข้น 0.00001 0.0001 0.001 0.005 0.01 0.02 0.1 0.2 และ 0.3 M ปิเปตสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนปริมาตร 5 mL ใส่ในขวดเก็บสารขนาด 10 mL จำนวน 9 ขวด จากนั้น ปิเปตสารละลาย PDADMAC แต่ละความเข้มข้นปริมาตร 0.1 mL ใส่ลงในขวดเก็บสารแต่ละขวดพร้อมปั่นกวนตลอดเวลาเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นปิดฝาตั้งทิ้งไว้ 1 วัน สีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีแดงเลือดนกเป็นสีม่วง ซึ่งสามารถแสดงการขั้นตอนการทดลองดังรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 แผนผังวิธีการปรับปรุงพื้นผิว AuNPs ด้วย PDADMAC ความเข้มข้น 0.00001 0.0001 0.001 0.005 0.01 0.02 0.1 0.2 และ 0.3 M

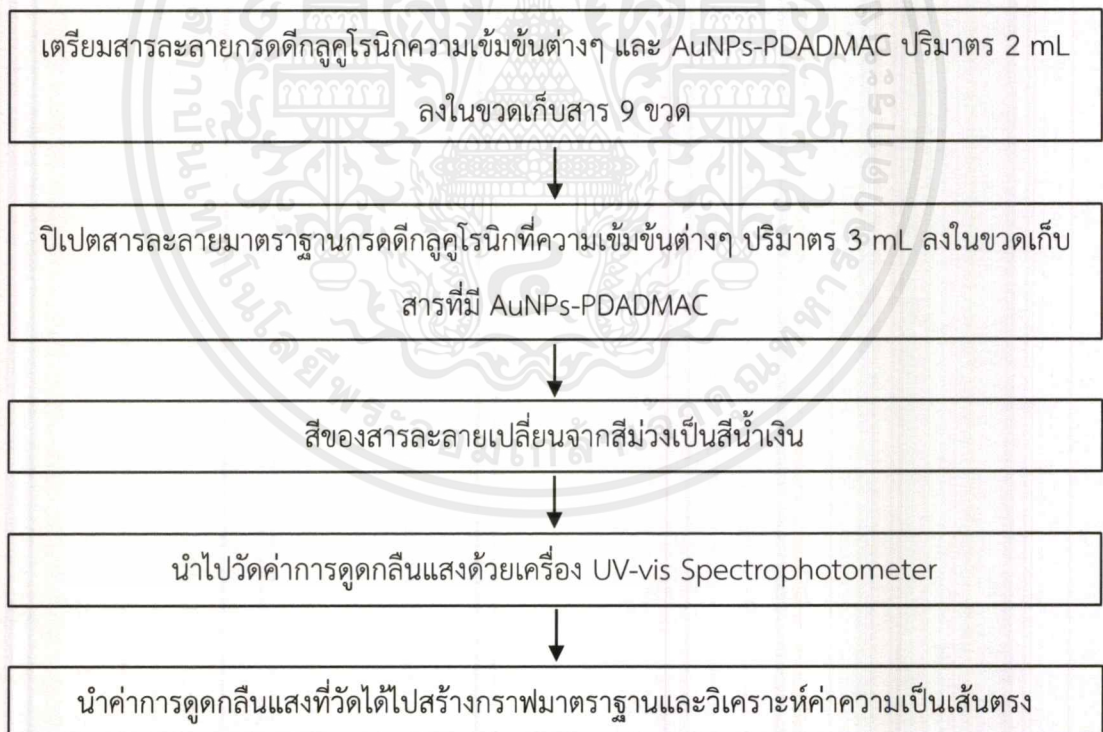
โดยทำการศึกษาตัวแปรดังต่อไปนี้

ลำดับ	ตัวแปร	การวิเคราะห์
1	ศึกษาผลของการดูดกลืนแสงของ AuNPs-DADMAC	UV-vis Spectrophotometry
2	ศึกษาสภาพความเป็นประจุของ AuNPs-PDADMAC	Zeta Potential
3	ศึกษารูปร่างและขนาดของ AuNPs-PDADMAC	TEM
4	ศึกษาหมู่ฟังก์ชันของ AuNPs-PDADMAC	FT-IR

3.5 การศึกษาปัจจัยต่างๆที่ส่งผลต่อการรับรู้และตรวจวัดของอนุภาคทองระดับนาโนในการวิเคราะห์สารละลายกรดตีกูลูโคโรนิก

3.5.1 การศึกษาความเป็นเส้นตรง

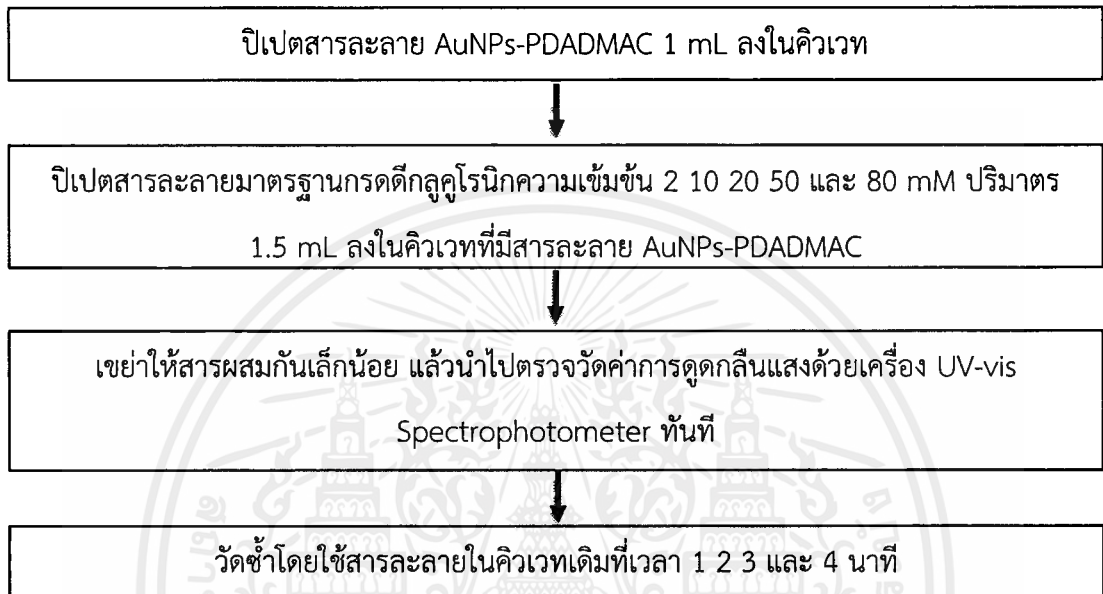
การศึกษาความเป็นเส้นตรงศึกษาได้จากการสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกรดตีกูลูโคโรนิกที่ความเข้มข้น 2 10 20 30 50 60 80 และ 100 mM จากนั้นวิเคราะห์ค่าความเป็นเส้นตรง (R^2) ซึ่งสามารถแสดงขั้นตอนการทดลองดังรูปที่ 3.3



รูปที่ 3.3 แผนผังวิธีการศึกษาความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์หาปริมาณกรดตีกูลูโคโรนิกด้วย AuNPs-PDADMAC

3.5.2 การศึกษาเวลาที่เหมาะสม

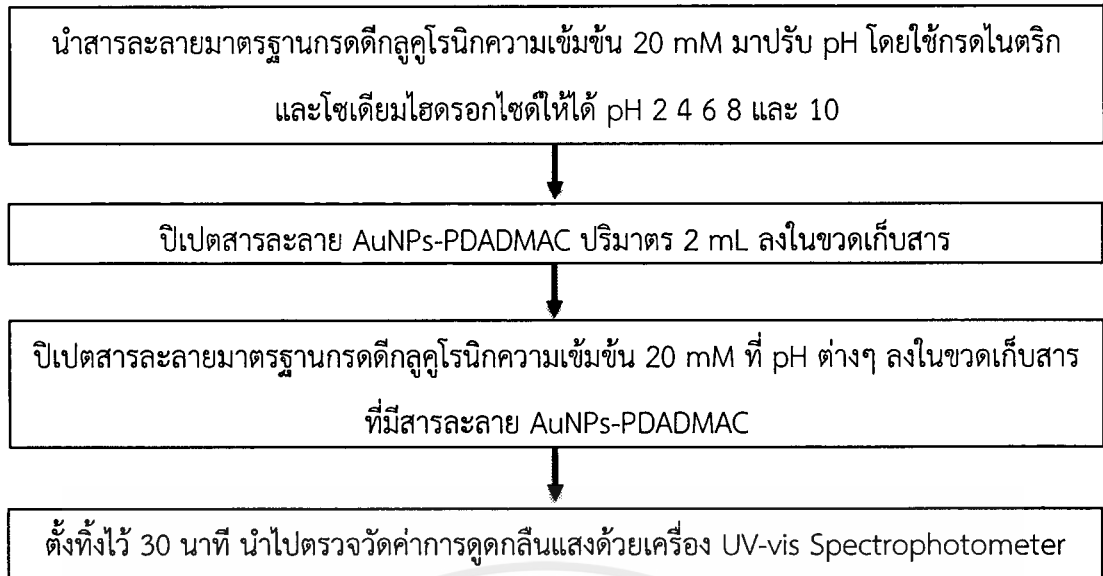
ปิเปตสารละลาย AuNPs-PDADMAC ปริมาตร 1 mL ลงในคิวเวท จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดดีกลูคูโรนิกความเข้มข้น 2 10 20 50 และ 80 mM ปริมาตร 1.5 mL ลงในคิวเวทที่มีสารละลาย AuNPs-PDADMAC อยู่ เขย่าให้สารผสมกันเล็กน้อย แล้วนำไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-vis Spectrophotometer ทันทันที และวัดซ้ำโดยใช้สารละลายในคิวเวทเดิมที่เวลา 1 2 3 และ 4 นาที ซึ่งสามารถแสดงขั้นตอนการทดลองดังรูปที่ 3.4



รูปที่ 3.4 แผนผังวิธีการศึกษาเวลาที่เหมาะสมของการวิเคราะห์หาปริมาณกรดดีกลูคูโรนิกด้วย AuNPs-PDADMAC

3.5.3 การศึกษาระดับ pH ที่เหมาะสม

นำสารละลายมาตรฐานกรดดีกลูคูโรนิกความเข้มข้น 20 mM มาปรับ pH โดยใช้กรดไนตริกและโซเดียมไฮดรอกไซด์ให้ได้ pH 2 4 6 8 และ 10 จากนั้นปิเปตสารละลาย AuNPs-PDADMAC ปริมาตร 2 mL ลงในขวดเก็บสาร แล้วปิเปตสารละลายมาตรฐาน DGA ความเข้มข้น 20 mM ที่ pH ต่างๆ ลงในขวดเก็บสารที่มีสารละลาย AuNPs-PDADMAC อยู่ ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที และนำไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-vis Spectrophotometer ซึ่งสามารถแสดงขั้นตอนการทดลองดังรูปที่ 3.5



รูปที่ 3.5 แผนผังวิธีการศึกษา pH ที่เหมาะสมของการวิเคราะห์หาปริมาณกรดดีกลูคูโรนิกด้วย AuNPs-PAADMAC

3.6 การศึกษาตัวแปรทางเคมีวิเคราะห์

3.6.1 การศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD)

การศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดคือการศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของสารละลายกรดดีกลูคูโรนิกที่ตรวจวัดได้โดยใช้กราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดดีกลูคูโรนิก และค่าการดูดกลืนแสง ทำได้โดยการวัด Blank จำนวน 10 ครั้ง แล้วนำมาคำนวณหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation; SD) ของ Blank จากนั้นทำการคำนวณโดยใช้สูตร

$$\text{LOD} = \frac{3 \text{ S.D. of Blank}}{\text{Slope of Calibration Curve}}$$

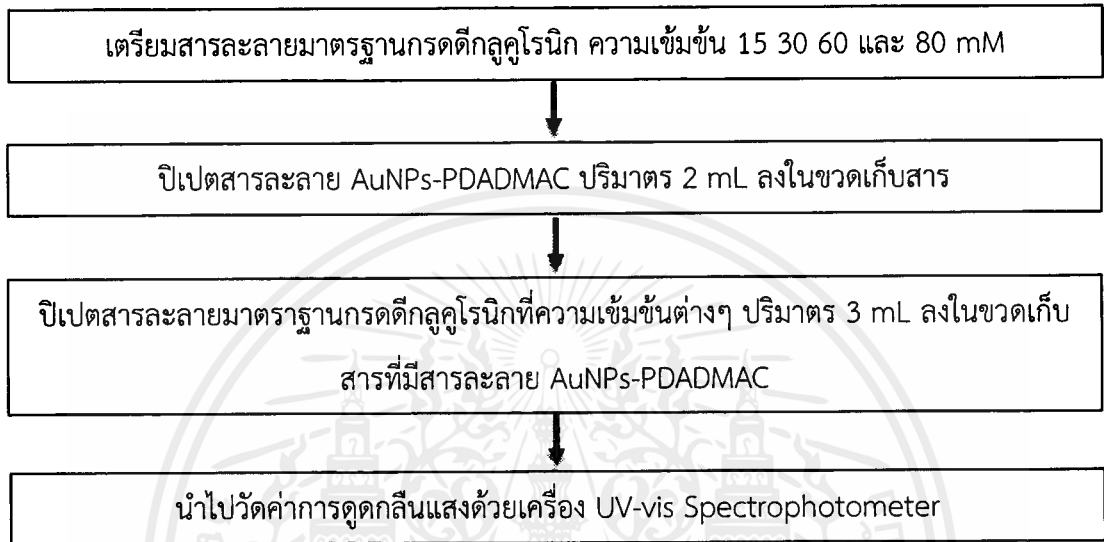
3.6.2 การศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ (LOQ)

การศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์คือการศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของสารละลายกรดดีกลูคูโรนิกที่ตรวจวัดได้โดยใช้กราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานดีกลูคูโรนิก และค่าการดูดกลืนแสง ทำได้โดยการวัด Blank จำนวน 10 ครั้ง แล้วนำมาคำนวณหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation; SD) ของ Blank จากนั้นทำการคำนวณโดยใช้สูตร

$$\text{LOQ} = \frac{10 \text{ S.D. of Blank}}{\text{Slope of Calibration Curve}}$$

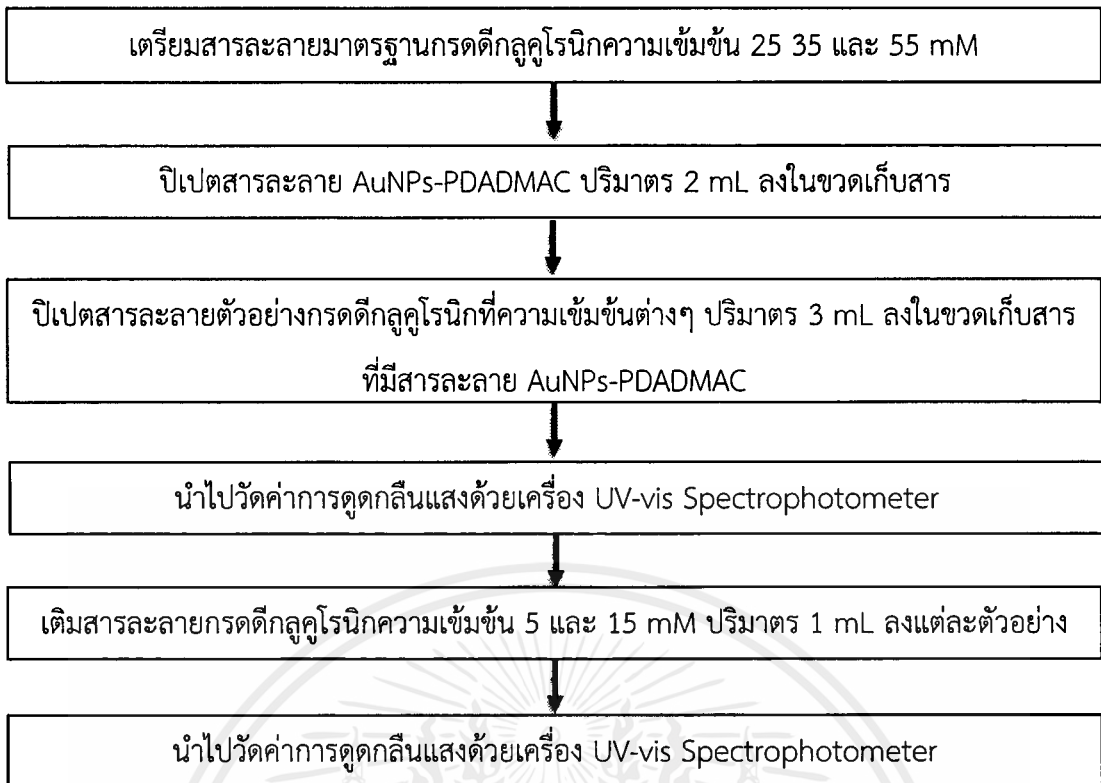
3.6.3 การศึกษาค่าร้อยละการคืนกลับและค่าความเที่ยง

การศึกษาค่าร้อยละการคืนกลับของสารละลายมาตรฐานกรดดีกลูคูโรนิก ทำโดยเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดดีกลูคูโรนิกความเข้มข้น 15 30 60 และ 80 mM จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดดีกลูคูโรนิกแต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 3 mL ลงในสารละลาย AuNPs-PDADMAC ปริมาตร 2 mL แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-vis spectrophotometer ซึ่งสามารถแสดงขั้นตอนการทดลองดังรูปที่ 3.6



รูปที่ 3.6 แผนผังวิธีการศึกษาค่าร้อยละการคืนกลับของสารละลายมาตรฐานกรดดีกลูคูโรนิกด้วย AuNPs-PDADMAC

การศึกษาค่าร้อยละของการคืนกลับของกรดดีกลูคูโรนิกในตัวอย่าง 1 2 และ 3 ทำโดยเตรียมสารละลายตัวอย่างกรดดีกลูคูโรนิกความเข้มข้น 25 35 และ 55 mM จากนั้นปิเปตสารละลายกรดดีกลูคูโรนิก แต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 3 mL ลงในสารละลาย AuNPs-PDADMAC ปริมาตร 2 mL แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-vis Spectrophotometer จากนั้นเติมสารละลายกรดดีกลูคูโรนิก ความเข้มข้น 5 และ 15 mM ปริมาตร 1 mL ลงไปในแต่ละตัวอย่างตามลำดับ แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-vis Spectrophotometer ซึ่งสามารถแสดงขั้นตอนการทดลองดังรูปที่ 3.7



รูปที่ 3.7 แผนผังวิธีการศึกษาค่าร้อยละของการคืนกลับของกรดติกลูคูโรนิกในตัวอย่าง 1 2 และ 3

การศึกษาค่าความเที่ยงพิจารณาจากค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative Standard Deviation; RSD) ซึ่งสามารถทำได้โดยการตรวจวัดซ้ำจำนวน 3 ครั้ง จากนั้นนำมาคำนวณโดยใช้สูตร

$$\%RSD = \frac{S.D.}{\bar{x}} \times 100$$

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

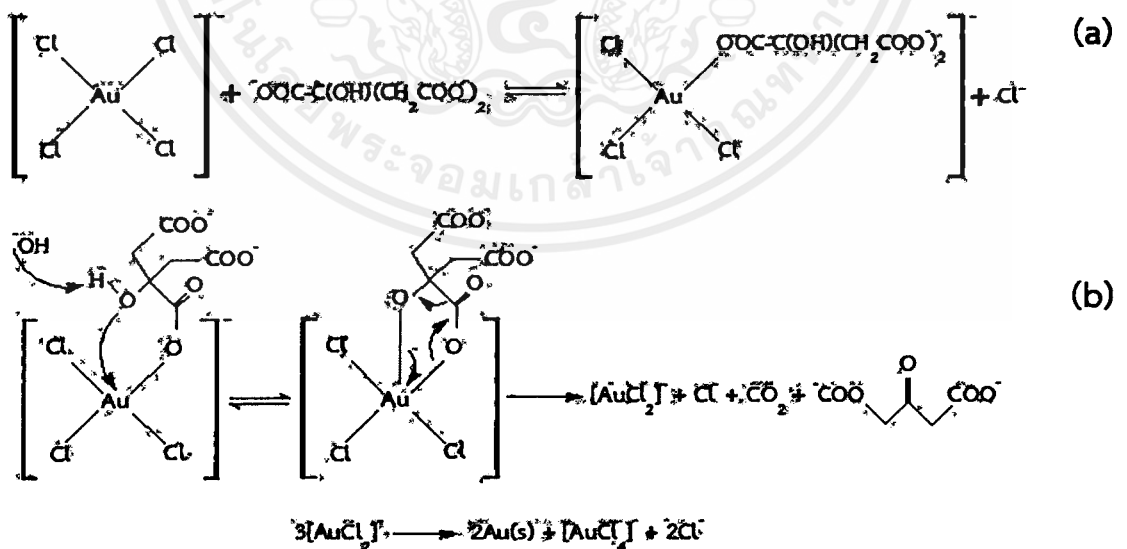
จากการศึกษาผลการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนที่ใช้สารละลายไตรโซเดียมซิเตรท ความเข้มข้น 15 mM แล้วนำมาปรับปรุงสภาพพื้นผิวด้วยโพลีไดแอลลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ ที่ความเข้มข้น 0.1 M เพื่อนำมาใช้ในการวิเคราะห์หากรดตึกถูโรนิกในสารตัวอย่าง โดยแสดง รายละเอียดของผลการทดลองดังนี้

4.1 การศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโน

4.1.1 การศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนโดยวิธีของเทอร์เควิช

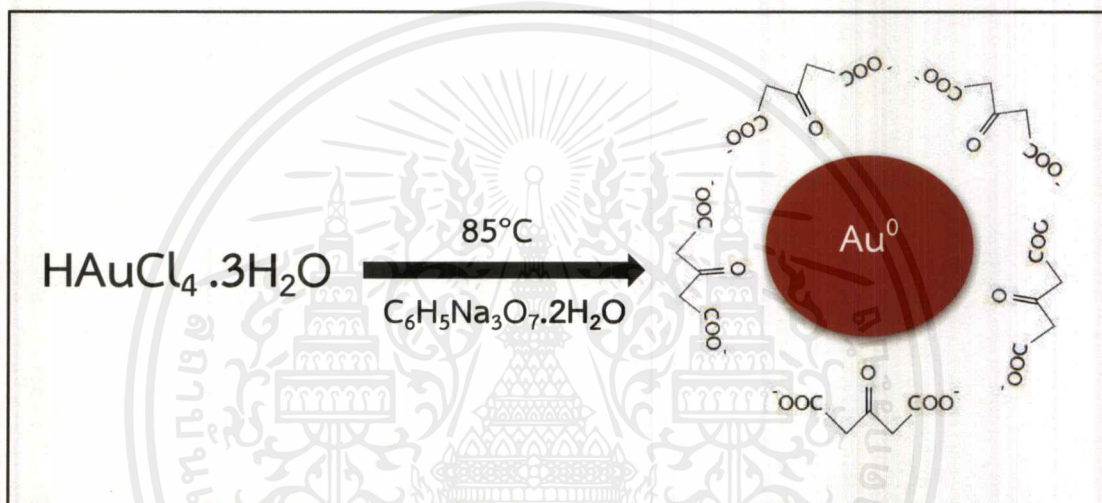
ก. การศึกษาการหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายไตรโซเดียมซิเตรทสำหรับการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโน

ในการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโน (AuNPs) สำหรับงานวิจัยนี้เลือกการสังเคราะห์ด้วยวิธีของเทอร์เควิช ซึ่งวิธีการสังเคราะห์นี้จะมีปฏิกิริยารีดักชันของโซเดียมซิเตรทเกิดขึ้น โดยหน้าที่ของโซเดียมซิเตรทนั้นคือการเป็นสารรักษาเสถียรภาพและเป็นตัวรีดิวซ์ที่อุณหภูมิ 85°C สังเกตสีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีแดงเลือดนก จึงจะได้สารละลายอนุภาคทองระดับนาโน จากนั้นนำไปผสมกับโพลีไดแอลลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์เพื่อเพิ่มประจุบวก โดยกลไกการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโน แสดงดังรูปที่ 4.1



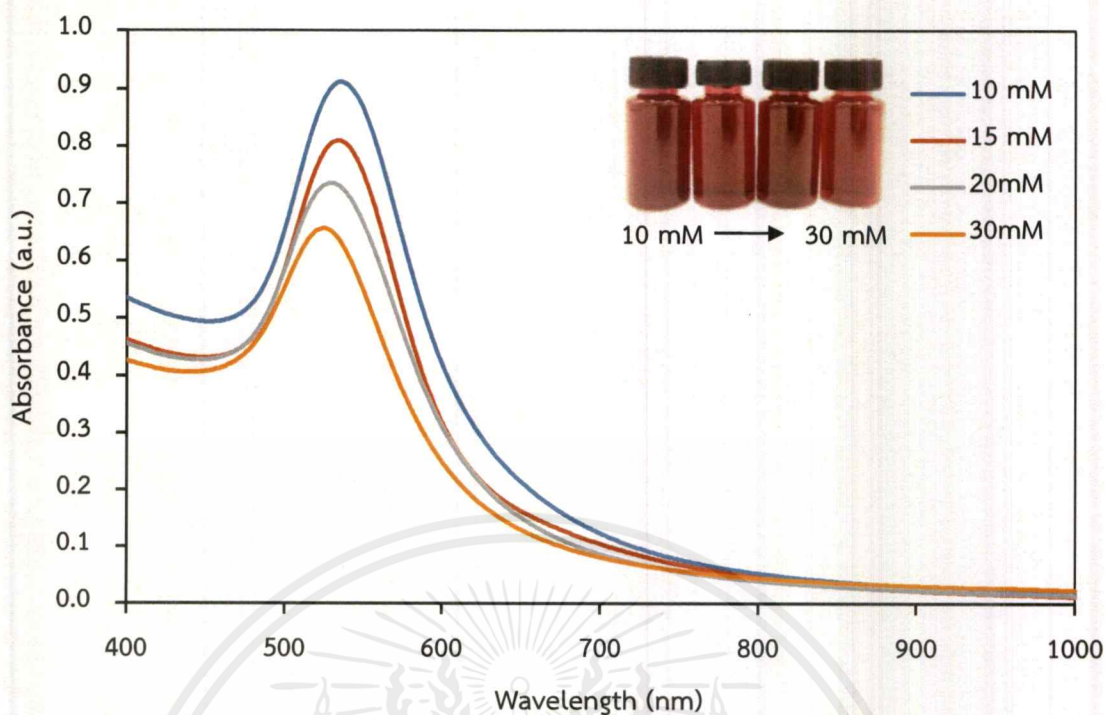
รูปที่ 4.1 ปฏิกิริยาการสังเคราะห์ AuNPs (a) Ligand Exchange Reaction and (b) Decarboxylation and Reduction of Au (III)

จากรูปที่ 4.1 แสดงให้เห็นว่า เกิดการแลกเปลี่ยนลิแกนด์โดยสารละลายไตรโซเดียมซิเตรท จะเกิดการแตกตัวเป็นไอออน จะได้เป็นซิเตรทไอออนแล้วจึงเข้าไปทำปฏิกิริยากับเตตระคลอโรอโรอเลทไตรไฮเดรต โดยซิเตรทไอออนจะจับกับเตตระคลอโรอโรอเลทไตรไฮเดรตโดยการเข้าไปแทนที่คลอไรด์ จากนั้นน้ำจะเกิดการแตกตัวเพื่อไปดึงไฮโดรเจนจากหมู่ไฮดรอกซิลของซิเตรทไอออน ทำให้เกิดหมู่ไฮดรอกซิล แล้วออกซิเจนจึงไปสร้างพันธะกับเตตระคลอโรอโรอเลทไตรไฮเดรต หลังจากนั้นจะเกิดการหลุดออกของคาร์บอนไดออกไซด์ และเมื่อมีการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนเกิดขึ้น ทำให้พันธะระหว่างออกซิเจนกับเตตระคลอโรอโรอเลทไตรไฮเดรตแตกออกได้เป็น 1,3-Dicarboxyacetone เกิดปฏิกิริยารีดักชันทำให้ทองถูกรีดิวซ์จากเดิมที่มีประจุบวกสามกลายเป็นทองไม่มีประจุหรือเป็นกลางทางไฟฟ้า และถูกรักษาเสถียรภาพแสดงการเกิดปฏิกิริยาดังรูปที่ 4.2



รูปที่ 4.2 การรักษาเสถียรภาพของไตรโซเดียมซิเตรท

จากรูปที่ 4.2 เป็นการแสดงการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารละลายอนุภาคทองคำนาโนและสารละลายไตรโซเดียมซิเตรท โดยเมื่อนำสารละลายทองไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85°C และเติมสารละลายไตรโซเดียมซิเตรทความเข้มข้น 15 mM ลงไป ความร้อนจะทำให้สารละลายไตรโซเดียมซิเตรทเปลี่ยนเป็นไดคาร์บอกซิไคโตนแล้วปรีดิษฐ์สารละลายทองให้กลายเป็นอนุภาคทองระดับนาโนและจะแสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนโดยใช้ไตรโซเดียมซิเตรทที่ความเข้มข้น 10 15 20 และ 30 mM ดังรูปที่ 4.3



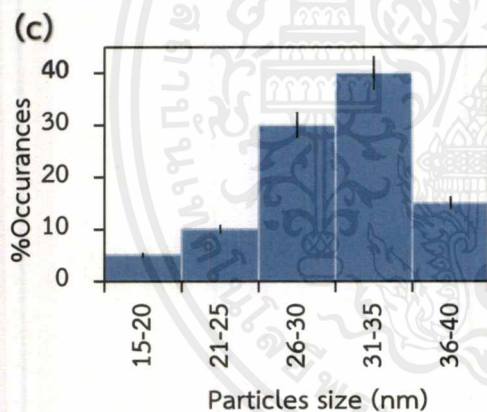
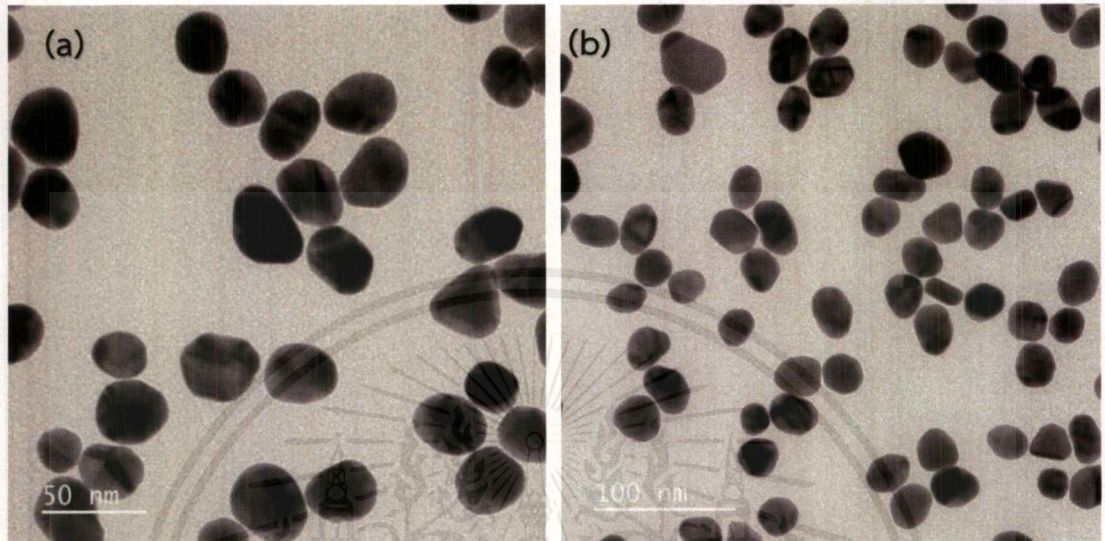
รูปที่ 4.3 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย AuNPs ที่สังเคราะห์ด้วยสารละลายไตรโซเดียมซิเตรทที่ความเข้มข้น 10 15 20 และ 30 mM

จากรูปที่ 4.3 แสดงให้เห็นว่า ความเข้มข้นของสารละลายไตรโซเดียมซิเตรทมีผลต่อสเปกตรัมการดูดกลืนแสงและขนาดของอนุภาคทองระดับนาโน เมื่อความเข้มข้นของสารละลายไตรโซเดียมซิเตรทเพิ่มขึ้นค่าการดูดกลืนแสงจะลดลง มีความยาวคลื่นสั้นลง และเมื่อความเข้มข้นของสารละลายไตรโซเดียมซิเตรทลดลง ค่าการดูดกลืนแสงจะเพิ่มขึ้น ความยาวคลื่นมากขึ้น ส่วนสีของอนุภาคทองระดับนาโนที่เกิดขึ้นก็มีความเข้มของสีต่างกัน โดยที่ความเข้มข้นของสารละลายไตรโซเดียมซิเตรท 10 mM จะมีความเข้มของสีมากที่สุดและจะมีความสว่างมากขึ้นเมื่อสารละลายไตรโซเดียมซิเตรทความเข้มข้นเพิ่มขึ้น สามารถแสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนและค่าความยาวคลื่นสูงสุดของไตรโซเดียมซิเตรทที่ความเข้มข้น 10 15 20 และ 30 mM ดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงค่าความยาวคลื่นสูงสุด (λ_{max}) ของอนุภาคทองระดับนาโน

ความเข้มข้นไตรโซเดียมซิเตรท (mM)	ความยาวคลื่นสูงสุด (nm)
10	535
15	533
20	528
30	524

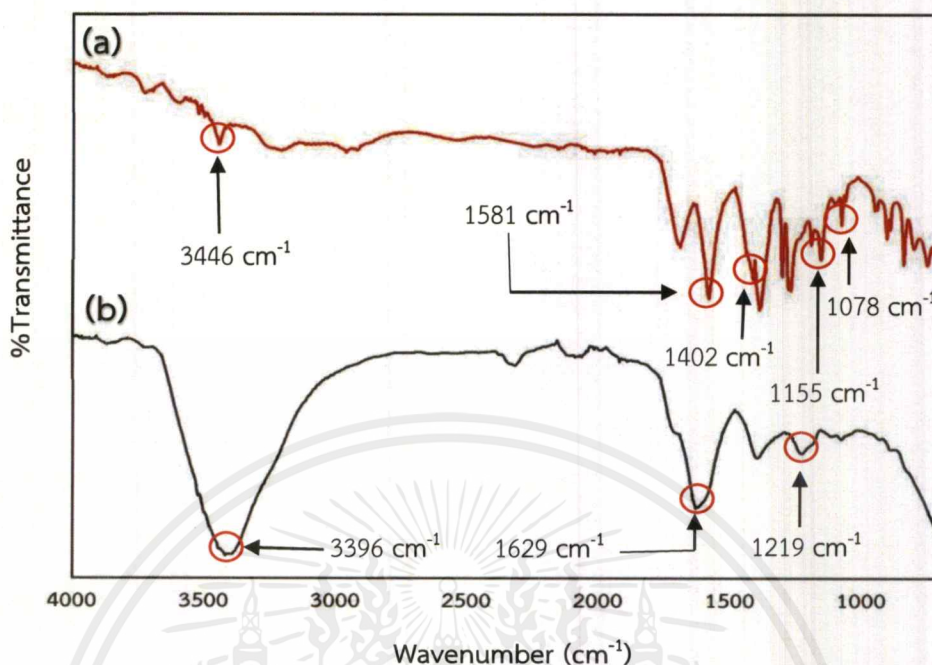
จากตารางที่ 4.1 แสดงให้เห็นความยาวคลื่นสูงสุดของไตรโซเดียมซิเตรทสามารถเรียงลำดับสารละลายไตรโซเดียมซิเตรทที่ความเข้มข้นสูงสุดในการทดลองคือ 30 20 15 และ 10 mM ตามลำดับ และมีค่าความยาวคลื่นคือ 524 528 533 และ 535 nm จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง TEM เพื่อดูขนาดและการกระจายตัวของทองอนุภาคระดับนาโน ดังในรูปที่ 4.4



รูปที่ 4.4 ภาพถ่ายจากเครื่อง TEM ของ AuNPs ความเข้มข้น 15 mM (a) สเกล 50 nm (b) สเกล 100 nm และ (c) กราฟแสดงอนุภาคเฉลี่ยของ AuNPs

จากรูปที่ 4.4 (a) และ (b) คือภาพถ่ายขยายขนาดของ AuNPs 50 และ 100 nm ซึ่งลักษณะของ AuNPs ที่สังเคราะห์ได้มีลักษณะเหมือนทรงกลม ส่วนใหญ่จะมีขนาดอนุภาคในช่วง 26-30 nm และ 31-35 nm อนุภาคไม่เกาะกลุ่มกัน และยังมีกระจายตัวได้ดี โดยในงานวิจัยนี้เลือกใช้ความเข้มข้นของไตรโซเดียมซิเตรทคือ 15 mM เพราะเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์ทองอนุภาคระดับนาโน เนื่องจากถ้าใช้สารละลายไตรโซเดียมซิเตรทความเข้มข้นต่ำเกินไปจะไม่เพียงพอต่อการรีดิวซ์ให้สารละลายเตตระคลอโรอเลทไตรโซเดียมกลายเป็นอนุภาคทองระดับนาโน ทั้งยังไม่เพียงพอต่อการรักษาเสถียรภาพของอนุภาคทองระดับนาโนอีกด้วย อนุภาคทองระดับนาโนจึงมีขนาดใหญ่ทำให้แต่ละอนุภาครวมตัวกันได้ง่าย และเมื่อเลือกใช้สารละลายไตรโซเดียมซิเตรทที่มีความเข้มข้นสูงเกินไปจะทำให้มีปริมาณของสารละลายไตรโซเดียมซิเตรทมากเกินไป ขนาดของอนุภาคจะมีขนาดเล็กลง ดังนั้นจึงเลือกอนุภาคทองระดับนาโนที่สังเคราะห์ด้วยไตรโซเดียมซิเตรทเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับกรใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้น 15 mM ไปวัดศักย์ซีต้า โดยมีค่าเท่ากับ -39.00 mV เมื่อนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง FT-IR เพื่อดูหมู่ฟังก์ชันของสาร แสดงดังรูปที่ 4.5



รูปที่ 4.5 แสดงหมู่ฟังก์ชันของ (a) ไตรโซเดียมซิเตรท (b) อนุภาคทองระดับนาโน

จากรูปที่ 4.5 (a) แสดงหมู่ฟังก์ชันของไตรโซเดียมซิเตรทซึ่งมีลักษณะการสั่นของ O-H Stretching หรือการสั่นแบบยืดหด เป็นการสั่นในแนวแกนพันธะ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระยะทางระหว่างอะตอม ซึ่งปรากฏสเปกตรัมในช่วงเลขคลื่น 3446 cm^{-1} ต่อมาพบการสั่นของ C=O Stretching ปรากฏสเปกตรัมในช่วงเลขคลื่น 1581 cm^{-1} ต่อมาเป็นสเปกตรัมที่ปรากฏช่วงเลขคลื่น 1402 cm^{-1} เป็นลักษณะการสั่นของ C-O Stretching ถัดมาพบการสั่นของ C-C Stretching ปรากฏช่วงเลขคลื่น 1155 cm^{-1} และพบการสั่นของ C-O Bending หรือการสั่นแบบงอ ปรากฏที่ช่วงเลขคลื่น 1078 cm^{-1} โดยทั้งสองลักษณะการสั่นนั้นเป็นการสั่นในหมู่ฟังก์ชันของกรดคาร์บอกซิลิก และยังเป็น การสั่นที่ทำให้ขนาดของมูมเปลี่ยนแปลงพันธะเคมี ที่สภาพแวดล้อมต่างกันจะดูดกลืนแสงที่มีความถี่และความเข้มต่างกัน (b) อนุภาคทองระดับนาโน มีลักษณะการสั่นของ O-H Stretching ปรากฏสเปกตรัมที่ช่วงเลขคลื่น 3396 cm^{-1} ต่อมาพบการสั่นของ C=O Stretching ปรากฏที่สเปกตรัมในช่วงเลขคลื่น 1629 cm^{-1} และมีลักษณะการสั่นของ C-O Stretching ปรากฏสเปกตรัมในช่วงเลขคลื่น 1219 cm^{-1} เป็นการสั่นในหมู่ฟังก์ชันของกรดคาร์บอกซิลิกเช่นเดียวกันกับ (a) เนื่องจากพันธะที่แข็งแรงกว่าจะใช้พลังงานมากกว่าในการทำให้พันธะสั่น ดังนั้นพันธะคู่อจึงดูดกลืนแสงที่พลังงานสูงกว่าพันธะเดี่ยว ทำให้เลขคลื่นที่ปรากฏในแต่ละช่วงนั้นมีค่าต่างกัน แสดงหมู่ฟังก์ชันของ Sodium Citrate และหมู่ฟังก์ชันของ AuNPs ดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 แสดงหมู่ฟังก์ชันของ Sodium Citrate และหมู่ฟังก์ชันของ AuNPs

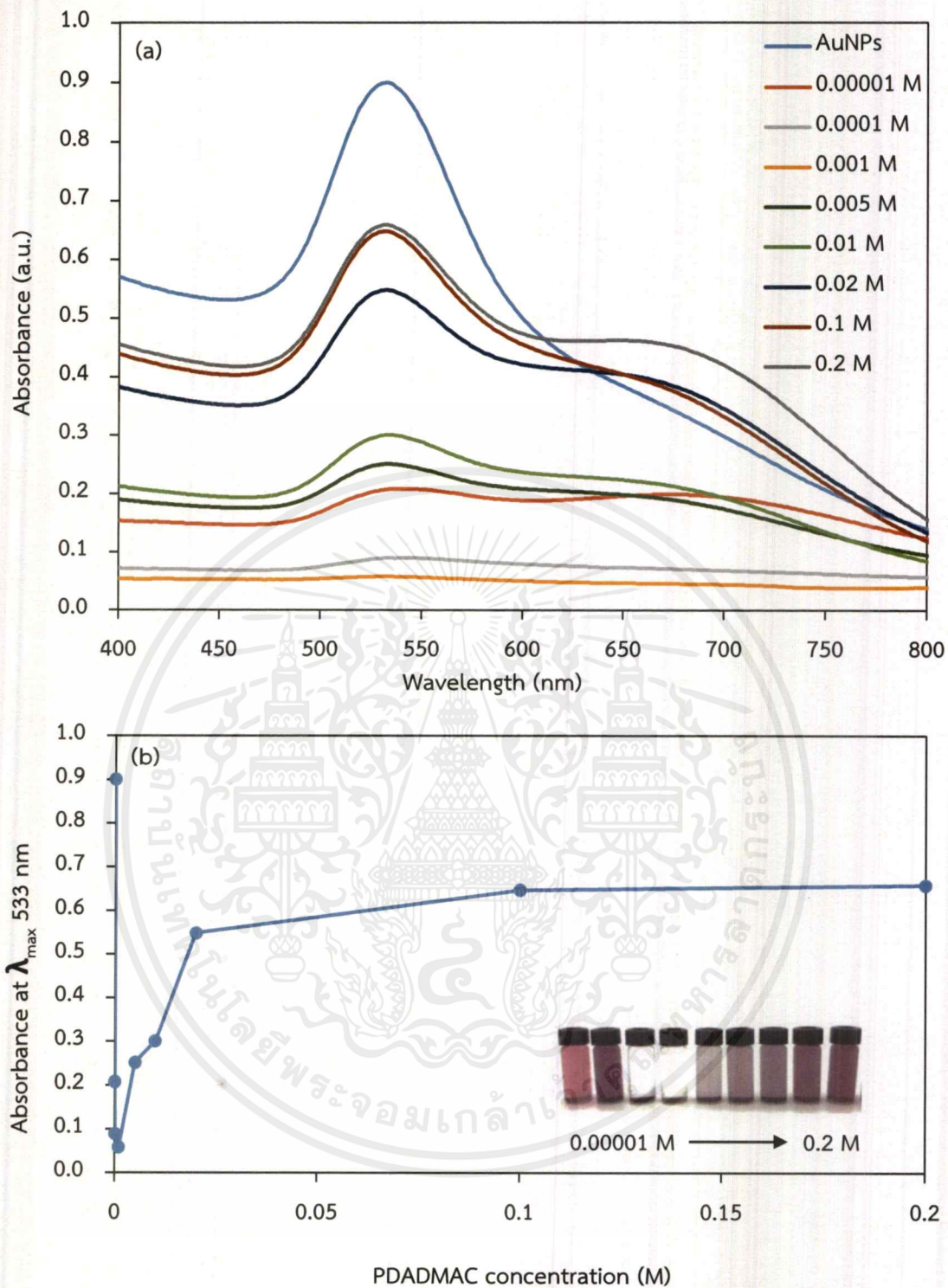
Sodium Citrate		AuNPs	
Wavenumber (cm ⁻¹)	Bond	Wavenumber (cm ⁻¹)	Bond
3446	O-H Stretching	3396	O-H Stretching
1581	C=O Stretching	1629	C=O Stretching
1402	C-O Stretching	1219	C-O Stretching
1155	C-C Stretching	-	-
1078	C-O Bending	-	-

จากตารางที่ 4.2 แสดงให้เห็นหมู่ฟังก์ชันของไตรโซเดียมซิเตรทและอนุภาคทองระดับนาโน โดยหมู่ฟังก์ชันของสารทั้งสองชนิดนี้มีลักษณะการสั่นที่คล้ายคลึงกันคือ เมื่อนำสเปกตรัมของไตรโซเดียมซิเตรทกับอนุภาคทองระดับนาโนมาเปรียบเทียบกันจะเห็นได้ว่ามีช่วงเลขคลื่นที่ใกล้เคียงกัน และมีสเปกตรัมที่ตรงกัน จึงเป็นการยืนยันได้ว่าการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนที่ได้มีไตรโซเดียมซิเตรทที่สามารถรักษาเสถียรภาพได้จริง

จากนั้นจึงนำอนุภาคทองระดับนาโนไปปรับปรุงสภาพพื้นผิวโดยใช้สารละลาย PDADMAC เพื่อให้พื้นผิวมีสภาพเป็นประจุบวก ซึ่งจำเป็นต้องทำการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลาย PDADMAC เนื่องจากมีผลต่อการกระจายตัวของอนุภาคทองระดับนาโน แสดงดังรูปที่ 4.6

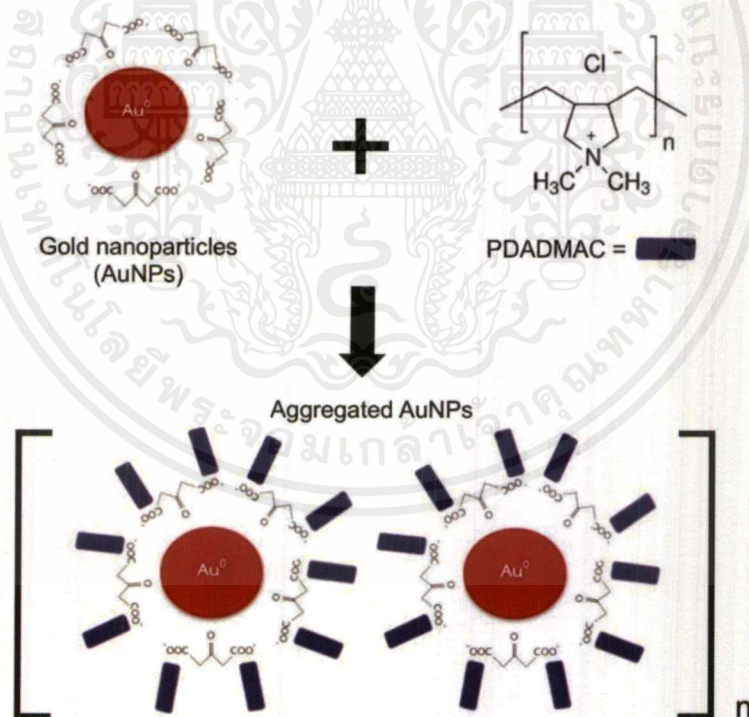
4.2 การศึกษาการปรับปรุงสภาพพื้นผิวของอนุภาคทองระดับนาโนด้วยโพลีไดแอลลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์

ในงานวิจัยนี้จะทำการปรับปรุงสภาพพื้นผิวของอนุภาคทองระดับนาโนโดยศึกษาความเข้มข้นต่างๆของโพลีไดแอลลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ (PDADMAC) โดยทำการเติมสารละลาย PDADMAC ลงไปในสารละลายอนุภาคทองระดับนาโน จากนั้นทำการปั่นกวนเป็นเวลา 10 นาที สารละลายจะเปลี่ยนสีจากสีแดงเลือดนกเป็นสีม่วง แล้วจึงนำสารละลายที่ได้ไปทำการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงเพื่อเลือกความเข้มข้นที่เหมาะสมของ PDADMAC ด้วยเครื่อง UV-vis Spectrophotometer แสดงผลดังรูปที่ 4.6



รูปที่ 4.6 (a) สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ AuNPs-PDADMAC (b) ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 533 nm ของ AuNPs-PDADMAC

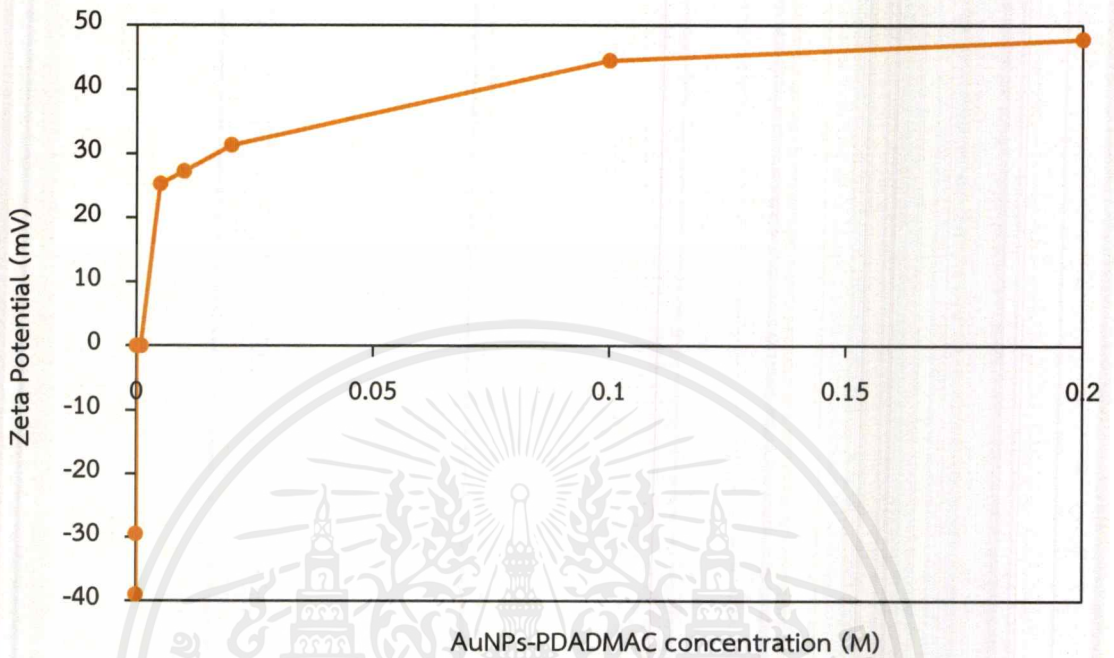
จากรูปที่ 4.6 (a) แสดงสเปกตรัมของสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนเมื่อเติมสารละลาย โพลีไดแอลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ (PDADMAC) ที่ความเข้มข้น 0.00001 0.0001 0.001 0.005 0.01 0.02 และ 0.1 M จะสังเกตได้ว่าที่ความเข้มข้น 0.02 M ขึ้นไป สีของสารละลายมีการเปลี่ยนแปลงจากเดิมสีแดงสดกลายเป็นสีม่วง โดยสีของสารละลายจะเข้มข้นตามความเข้มข้นของ สารละลาย PDADMAC ค่าการดูดกลืนแสงจะเพิ่มขึ้นเนื่องจากสารละลายอนุภาคทองนาโนมีการ กระจายตัวกลับขึ้นมาได้จากการตกตะกอน แต่อาจจะมีตะกอนบางส่วนที่ยังคงหลงเหลืออยู่จึงทำให้มี สเปกตรัมใหม่เกิดขึ้นในช่วง 700 nm ส่วนสารละลาย PDADMAC ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.01 ลงมา พบว่า ไม่สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้เนื่องจากอนุภาคเกิดการตกตะกอน และ (b) แสดงค่าการ ดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 533 nm ทำให้เห็นได้ว่าเมื่อความเข้มข้นของสารละลาย PDADMAC เพิ่มมากขึ้น ค่าการดูดกลืนแสงก็จะมากขึ้นตาม จากกราฟนั้น เมื่อถึงจุดสูงสุดคือที่ความ เข้มข้น 0.1 M ค่าการดูดกลืนแสงก็จะเริ่มคงที่ จึงเลือกความเข้มข้นของสารละลาย PDADMAC ที่ ความเข้มข้น 0.1 M เนื่องจากเป็นสภาวะที่เหมาะสม ถ้าหากความเข้มข้นต่ำกว่านี้ก็จะเกิดการ ตกตะกอน และถ้าความเข้มข้นสูงมากขึ้นก็จะมีสารมากเกินไปจนความจำเป็น สามารถแสดงกลไกการ เกิดปฏิกิริยาได้ดังรูป 4.7



รูปที่ 4.7 อนุภาคทองระดับนาโนที่ถูกปรับปรุงสภาพพื้นผิวด้วยสารละลาย PDADMAC

จากรูปที่ 4.7 แสดงให้เห็นว่าอนุภาคทองระดับนาโนได้ถูกปรับปรุงสภาพพื้นผิวด้วย สารละลาย PDADMAC แล้ว เนื่องจากเมื่อเติมสารละลาย PDADMAC ความเข้มข้น 0.1 M ลงไปใน

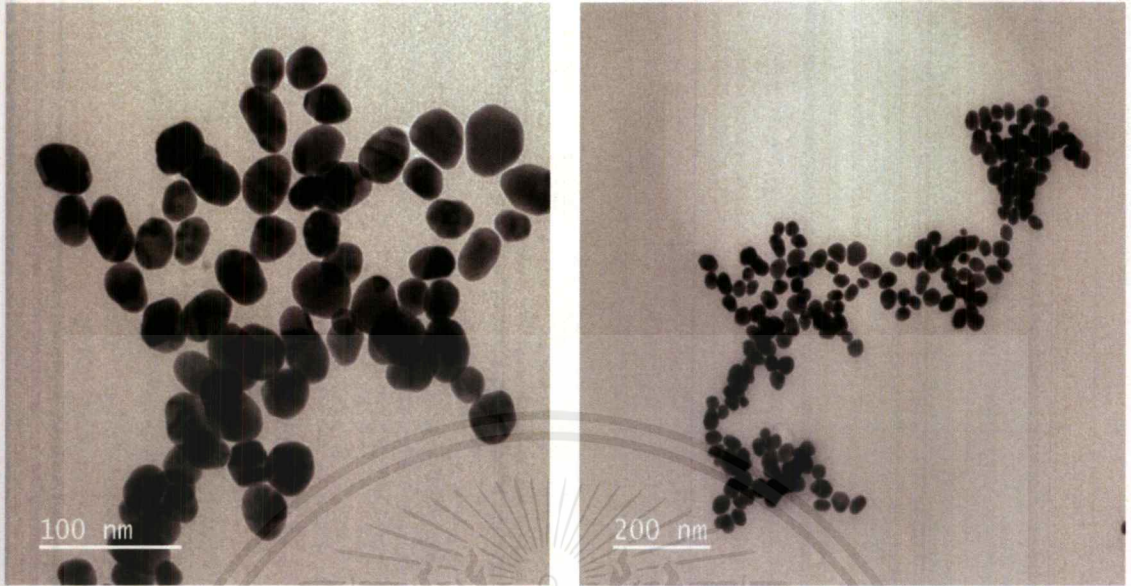
สารละลายอนุภาคทองระดับนาโน จะทำให้หมู่ Quaternary Ammonium เข้าไปจับกับอนุภาคทองระดับนาโนและมีการล้อมรอบอนุภาคทองระดับนาโนเกิดขึ้น จากนั้นจึงนำไปวัดศักย์ซีต้าเพื่อศึกษาประจุบนพื้นผิวอนุภาค แสดงผลดังรูปที่ 4.8



รูปที่ 4.8 แสดงค่าศักย์ซีต้าของ AuNPs ที่ปรับปรุงสภาพพื้นผิวด้วยสารละลาย PDADMAC

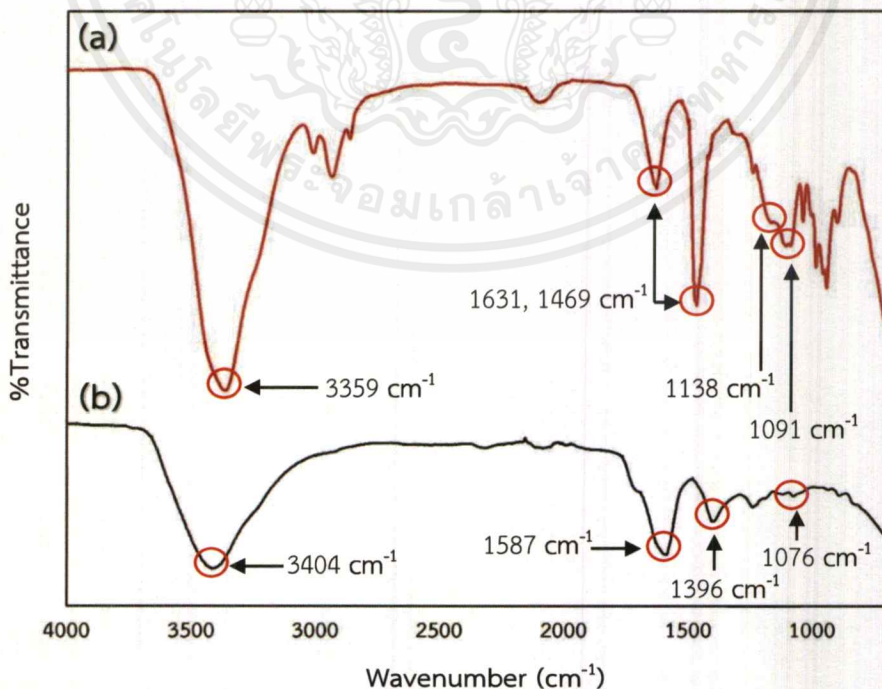
จากรูปที่ 4.8 จะเห็นได้ว่าค่าศักย์ซีต้าเริ่มต้นนั้นมีค่าติดลบ และจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆเมื่อความเข้มข้นของสารละลาย PDADMAC เพิ่มขึ้น กล่าวคือ เมื่อเริ่มต้นก่อนที่จะทำการปรับปรุงสภาพพื้นผิวของสารละลายอนุภาคทองนาโนนั้นสามารถวัดค่าศักย์ซีต้าได้เท่ากับ -39.00 mV หลังจากเติมสารละลาย PDADMAC ที่ความเข้มข้นต่างๆลงไป ค่าศักย์ซีต้าจะมีค่าเพิ่มขึ้นจนกลายเป็นประจุบวก โดยค่าศักย์ซีต้าที่เป็นประจุลบเกิดจากความเข้มข้นของสารละลาย PDADMAC ที่ 0.00001 M คือค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุด เนื่องจากมีความเข้มข้นของสารละลายไม่เพียงพอต่อการปรับปรุงสภาพพื้นผิวสารละลายทองอนุภาคระดับนาโน และค่าศักย์ซีต้าที่ความเข้มข้น 0.0001 - 0.001 M วัดค่าศักย์ซีต้าได้เท่ากับ 0 mV เพราะมีการตกตะกอนของสารละลายทองอนุภาคนาโนเกิดขึ้น ทำให้ค่าที่วัดได้ไม่มีประจุบวกหรือลบ ส่วนค่าศักย์ซีต้าที่วัดได้เป็นบวกคือความเข้มข้นของสารละลาย PDADMAC ที่สูงขึ้นคือ 25.32 27.33 31.34 44.47 47.76 และ 46.53 mV ตามลำดับ ดังนั้น จึงเลือกใช้ความเข้มข้น 0.1 M สำหรับการปรับปรุงพื้นผิวสารละลายอนุภาคทองนาโน เนื่องจากถ้าใช้ความเข้มข้นสูงจะทำให้มีปริมาณสารละลาย PDADMAC มากเกินไป และถ้าหากใช้ความเข้มข้นที่ต่ำก็อาจจะทำให้สารละลายทองอนุภาคนาโนเกิดการตกตะกอนได้ จากการวัดค่าศักย์ซีตานั้นสามารถยืนยันได้ว่า

สารละลายอนุภาคทองคำนาโนได้ถูกปรับปรุงสภาพพื้นผิวด้วยสารละลาย PDADMAC แล้ว จากนั้นสามารถนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง TEM แสดงผลดังรูปที่ 4.9



รูปที่ 4.9 ภาพถ่ายจากเครื่อง TEM ของ AuNPs-PDADMAC (a) สเกล 100 nm และ (b) สเกล 200 nm

จากรูปที่ 4.9 จากการเติมสารละลาย PDADMAC ลงไปในสารละลายอนุภาคทองคำระดับนาโน จะเห็นได้ว่า สารละลาย PDADMAC จะเข้าไปล้อมรอบสารละลายทองคำนาโน มีลักษณะดังรูปที่ 4.9 โดยอาศัยแรงยึดเหนี่ยวทางไฟฟ้าสถิตย์ จากนั้นนำไปวิเคราะห์ต่อด้วยเครื่อง FT-IR เพื่อศึกษา หมู่ฟังก์ชันของสาร แสดงผลดังรูปที่ 4.10



รูปที่ 4.10 สเปกตรัม FT-IR ของ (a) PDADMAC (b) AuNPs-PDADMAC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.10 (a) แสดงหมู่ฟังก์ชันของ PDADMAC ซึ่งมีลักษณะการสั่นของ O-H Stretching หรือการสั่นแบบยืดหด เป็นการสั่นในแนวแกนพันธะ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระยะทางระหว่างอะตอม ซึ่งปรากฏสเปกตรัมในช่วงเลขคลื่น 3359 cm^{-1} ต่อมา สเปกตรัมที่ปรากฏในช่วงเลขคลื่น $1631, 1469\text{ cm}^{-1}$ เป็นลักษณะการสั่นของ C-O Bending หรือการสั่นแบบงอ เป็นการสั่นที่ทำให้ขนาดของมุมเปลี่ยนแปลงพันธะเคมี ที่สภาพแวดล้อมต่างกันจะดูดกลืนแสงที่มีความถี่และความเข้มต่างกัน ถัดมา มีการสั่นของ C-N Stretching ปรากฏสเปกตรัมในช่วงเลขคลื่น 1138 cm^{-1} และมีการสั่นของ C-C Stretching ซึ่งปรากฏในช่วงเลขคลื่น 1091 cm^{-1} (b) แสดงหมู่ฟังก์ชันของ AuNPs-PDADMAC มีลักษณะการสั่นของ O-H Stretching ปรากฏสเปกตรัมในช่วงเลขคลื่น 3404 cm^{-1} และมีลักษณะการสั่นของ C-H Bending ปรากฏสเปกตรัมในช่วงเลขคลื่น $1587, 1396\text{ cm}^{-1}$ ส่วนสเปกตรัมที่ปรากฏในช่วงเลขคลื่น 1076 เป็นลักษณะการสั่นของ C-N Stretching ซึ่งเป็นลักษณะการสั่นเช่นเดียวกันกับ (a) เนื่องจากพันธะที่แข็งแรงกว่าจะใช้พลังงานมากกว่าในการทำให้พันธะสั่น ดังนั้นพันธะคู่จึงดูดกลืนแสงที่พลังงานสูงกว่าพันธะเดี่ยว ทำให้เลขคลื่นที่ปรากฏในแต่ละช่วงนั้นมีค่าต่างกัน แสดงหมู่ฟังก์ชันของ PDADMAC และหมู่ฟังก์ชันของ AuNPs-PDADMAC ดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 แสดงหมู่ฟังก์ชันของ PDADMAC และหมู่ฟังก์ชันของ AuNPs-PDADMAC

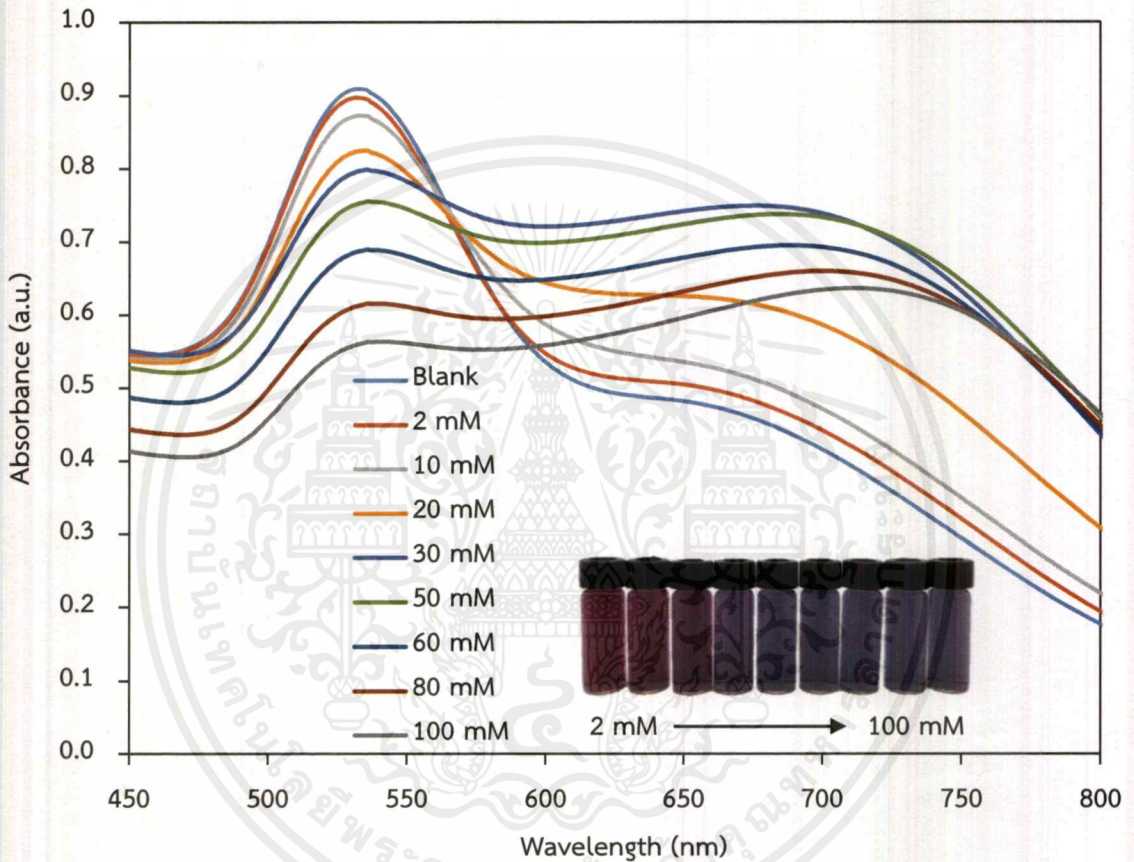
PDADMAC		AuNPs-PDADMAC	
Wavenumber (cm^{-1})	Bond	Wavenumber (cm^{-1})	Bond
3359	C-H Stretching	3404	O-H Stretching
1631, 1469	C-H Bending	1587, 1396	C-H Bending
1138	C-N Stretching	1076	C-N Stretching
1091	C-C Stretching	-	-

จากตารางที่ 4.2 แสดงให้เห็นหมู่ฟังก์ชันของ PDADMAC และ AuNPs-PDADMAC โดยหมู่ฟังก์ชันของสารทั้งสองชนิดนั้นมีลักษณะการสั่นที่คล้ายคลึงกันคือ เมื่อนำสเปกตรัมของสารทั้งสองมาเปรียบเทียบกันจะเห็นได้ว่ามีช่วงเลขคลื่นที่ใกล้เคียงกันและมีสเปกตรัมที่ตรงกัน จึงเป็นการยืนยันได้ว่าในสารละลายทองอนุภาคนาโนได้ถูกปรับสภาพพื้นผิวด้วยสารละลาย PDADMAC

4.3 การศึกษาการตรวจวัดเชิงสีของทองอนุภาคระดับนาโนที่ถูกปรับปรุงสภาพพื้นผิวด้วยโพลีไดแอลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ในการวิเคราะห์กรดดีกลูคูโรนิก

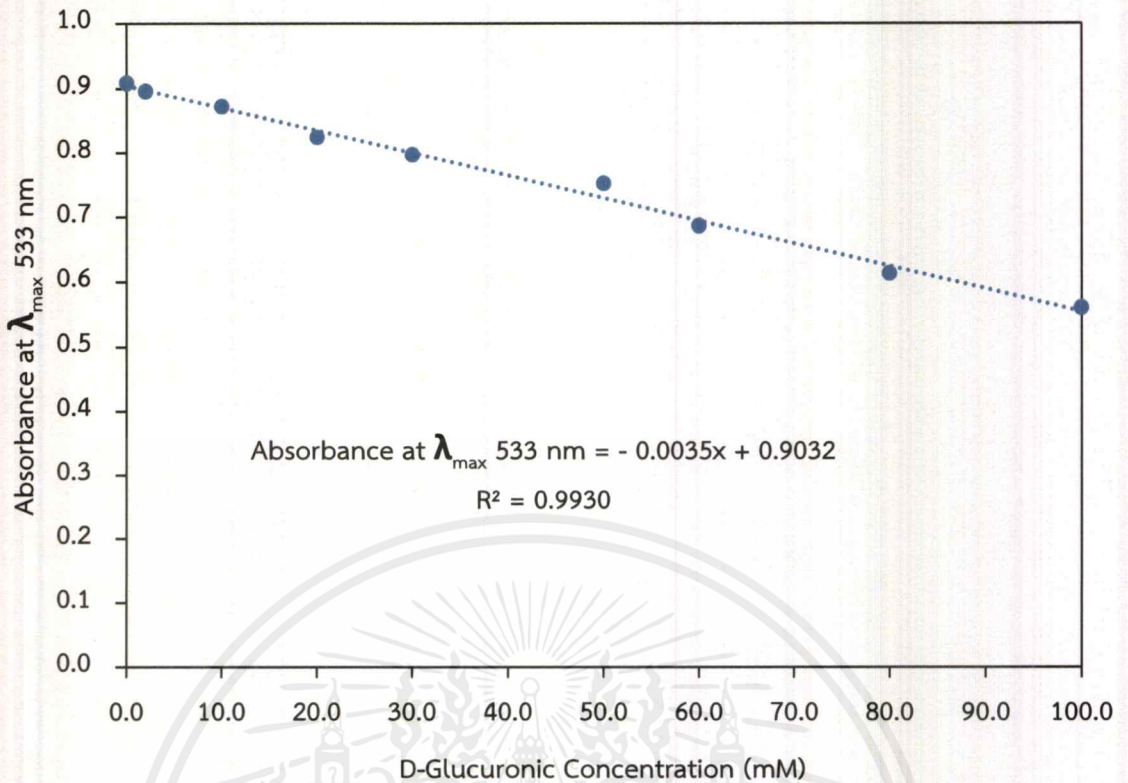
4.3.1 การศึกษาความเป็นเส้นตรง

ทำได้โดยสังเคราะห์ทองอนุภาคระดับนาโนผสมโพลีไดแอลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์และนำไปวิเคราะห์กรดดีกลูคูโรนิกที่ความเข้มข้นต่างๆ จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายด้วยเครื่อง UV-vis Spectrophotometer ดังแสดงในรูปที่ 4.11



รูปที่ 4.11 ค่าการดูดกลืนแสงของ AuNPs-PDADMAC ที่ใช้เป็นตัวรับรู้เชิงสีในการวิเคราะห์กรดดีกลูคูโรนิกที่ความเข้มข้น 2 ถึง 100 mM

จากรูปที่ 4.11 สารละลาย AuNPs-PDADMAC มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 533 nm เมื่อเติมสารละลายกรดดีกลูคูโรนิกความเข้มข้นต่างๆลงไปจะเห็นสีของสารละลายมีการเปลี่ยนแปลงจากสีม่วงเป็นสีน้ำเงิน โดยสารละลายจะมีสีที่เข้มขึ้นตามความเข้มข้นที่มากขึ้นและมีค่าการดูดกลืนแสงลดลงเรื่อยๆ เมื่อสารละลายกรดดีกลูคูโรนิกมีความเข้มข้นมากขึ้น สามารถนำผลค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 533 nm และความเข้มข้นของสารละลายกรดดีกลูคูโรนิกมาสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อหาสมการเส้นตรงดังแสดงในรูปที่ 4.12

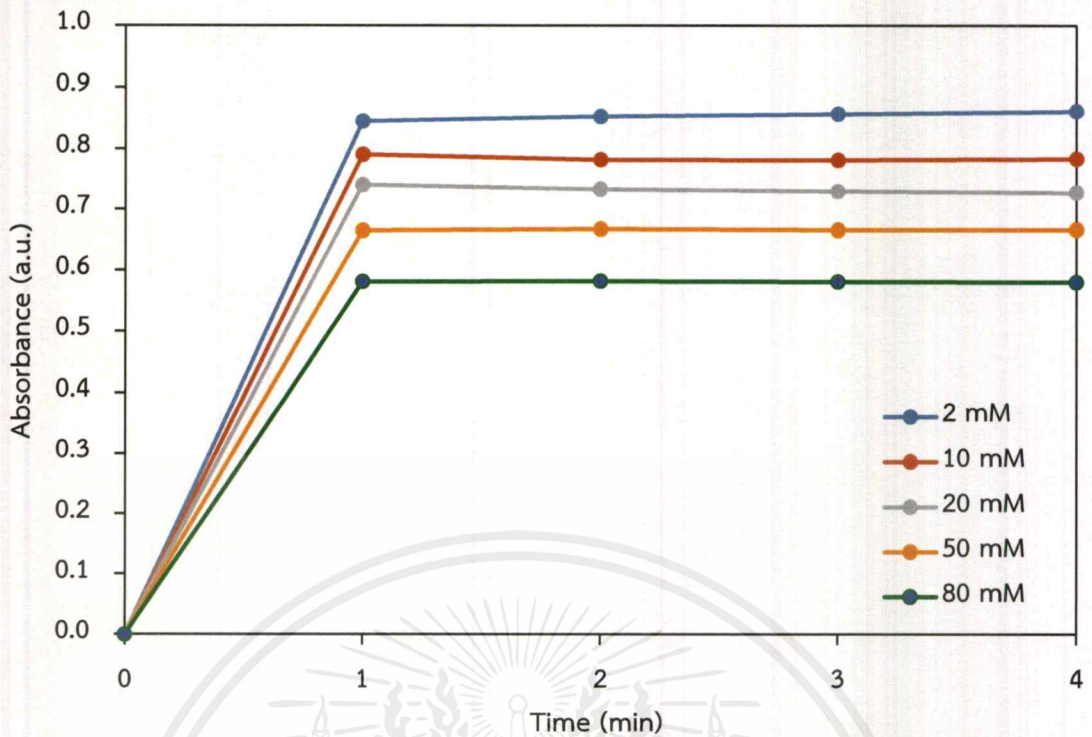


รูปที่ 4.12 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงช่วงความยาวคลื่น 533 nm และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดดีกลูคูโรนิก

จากรูปที่ 4.12 สามารถนำความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดดีกลูคูโรนิก มาสร้างกราฟมาตรฐานได้สมการเส้นตรงคือ Absorbance at λ_{\max} 533 nm = - 0.0035x + 0.9032 และมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.9930

4.3.2 การศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการวิเคราะห์กรดดีกลูคูโรนิก

ทำการทดลองโดยนำสารละลายมาตรฐานกรดดีกลูคูโรนิกที่ความเข้มข้น 2 10 20 50 และ 80 mM ใส่ลงไปในสารละลาย AuNPs จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายด้วยเครื่อง UV-vis Spectrophotometer ที่เวลานาทีที่ 1 2 3 และ 4 แสดงผลดังรูปที่ 4.13

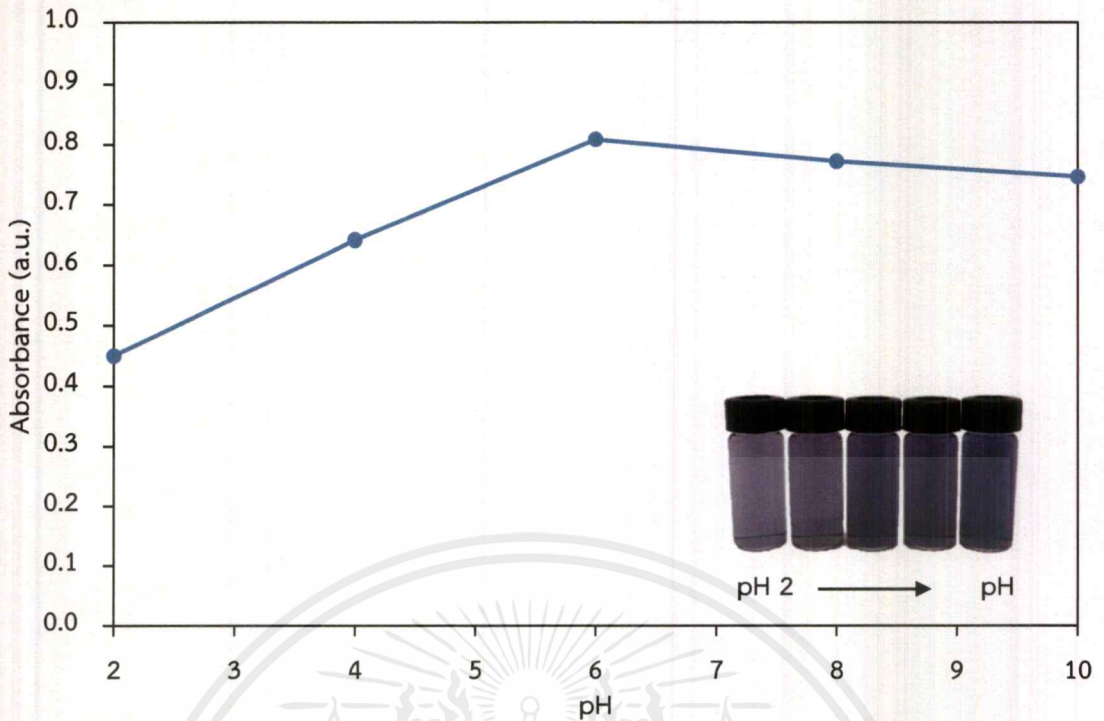


รูปที่ 4.13 ค่าการดูดกลืนแสงของการวิเคราะห์กรดดีกลูโครนิกที่เวลาต่างกัน

จากรูปที่ 4.13 แสดงผลของเวลาในการตรวจวัดกรดดีกลูโครนิก โดยเมื่อเริ่มทำการตรวจวัดกรดดีกลูโครนิกพบว่า สารเกิดปฏิกิริยาระหว่างกันทำให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุด และปฏิกิริยายังคงดำเนินต่อไปจนถึงนาทีที่ 2 ปฏิกิริยาจึงเกิดโดยสมบูรณ์ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้เวลาในการทำการวิเคราะห์กรดดีกลูโครนิกคือ 2 นาที เนื่องจากถ้าเลือกใช้เวลาในการวิเคราะห์ที่มากกว่า 2 นาทีจะทำให้ผลการวิเคราะห์ที่ไม่แตกต่างกันและเป็นการสิ้นเปลืองเวลา ส่วนถ้าเลือกทำการวิเคราะห์ก่อนนาทีที่ 2 ปฏิกิริยาจะยังเกิดไม่ได้สมบูรณ์ จึงไม่เหมาะสำหรับนำมาวิเคราะห์กรดดีกลูโครนิก

4.3.3 การศึกษา pH ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์กรดดีกลูโครนิก

ทำการทดลองโดยนำ AuNPs-PDADMAC มาปรับ pH โดยใช้กรดไฮโดรคลอริกและโซเดียมไฮดรอกไซด์ให้ได้ pH 2 4 6 8 และ 10 แล้วนำไปวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานกรดดีกลูโครนิกที่ความเข้มข้น 20 mM จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายด้วยเครื่อง UV-vis Spectrophotometer แสดงผลดังรูปที่ 4.14



รูปที่ 4.14 ค่าการดูดกลืนแสงของการวิเคราะห์กรดตึกคูโรนิกที่ pH ต่างกัน

จากรูปที่ 4.14 แสดงผลการศึกษาค่า pH ที่ส่งผลต่อการวิเคราะห์กรดตึกคูโรนิก โดยที่ช่วง pH 2 และ 4 นั้นมีค่าการดูดกลืนแสงต่ำเนื่องจากค่า pH ใกล้เคียงกับค่าคงที่การแตกตัว (pK_a) ของกรดตึกคูโรนิกคือ 3.21 ซึ่งมีสถานะเป็นกรด เกิดการดีโพรโตนตักกับหมู่คาร์บอกซิลแตกกลายเป็นคาร์บอกซิลิก ทำให้อนุภาคบางส่วนมีการตกตะกอน สีของสารละลายจึงไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงและมีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ต่ำ ส่วนช่วง pH 6 นั้น เป็นช่วง pH ที่ทำให้อนุภาคเริ่มกระจายตัวกลับขึ้นมา อีกทั้งยังมีการกระจายตัวได้ดี และที่ pH 8 และ 10 พบว่ามีค่าการดูดกลืนแสงมากขึ้น สีของสารละลายจะมีความเข้มมากขึ้น เนื่องจากเป็นสภาวะเบส มีไฮดรอกไซด์ (OH^-) มาก ซึ่งจะทำลายแรงผลักรหว่างแต่ละอนุภาค ทำให้อนุภาคเข้ามาใกล้กัน ขนาดจึงใหญ่ขึ้น ส่งผลให้ค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้น ดังนั้น pH ที่สามารถนำมาวิเคราะห์กรดตึกคูโรนิกได้คือ pH 6

4.3.4 การศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD)

การศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดทำได้โดยการใช้กราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดตึกคูโรนิกกับค่าการดูดกลืนแสง และการวัดสารละลายแบลนด์ (Blank) ซ้ำจำนวน 10 ครั้ง จากนั้นนำค่ามาทำการคำนวณหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) ของ Blank โดยใช้สูตร $3SD \text{ of Blank} / \text{Slope of Calibration}$ เมื่อ SD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation, SD) ของ Blank และ Slope คือค่าความชันที่ได้จากสมการเชิงเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน ได้เท่ากับ 0.005 แล้วนำมาคำนวณค่า LOD ได้แสดงผลดังตารางที่ 4.4

4.3.5 การศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ (LOQ)

การศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ทำได้โดยการใช้กราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดดีกลูคูโรนิกกับค่าการดูดกลืนแสง และการวัดสารละลายเบงค์ (Blank) ซ้ำจำนวน 10 ครั้ง จากนั้นนำค่ามาทำการคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) ของ Blank โดยใช้สูตร $3SD$ of Blank/Slope of Calibration เมื่อ SD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation, SD) ของ Blank และ Slope คือค่าความชันที่ได้จากสมการเชิงเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน ได้เท่ากับ 0.005 แล้วนำมาคำนวณค่า LOQ ได้แสดงผลดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ค่า LOD และ LOQ

ตัวแปร	ค่าที่คำนวณได้ (mM)
ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD)	4.8857 ± 0.005
ขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ (LOQ)	16.2857 ± 0.005

4.2.6 การศึกษาค่าร้อยละการคืนกลับ (% Recovery) และค่าความเที่ยง (Precision)

ทำการทดลองได้โดยการนำสารละลายมาตรฐานกรดดีกลูคูโรนิกความเข้มข้น 15 30 60 และ 80 mM ใส่ลงไปใน AuNPs-PDADMAC แล้วนำไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-vis spectrophotometer แสดงผลดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ค่าร้อยละของการคืนกลับของสารละลายมาตรฐานกรดดีกลูคูโรนิกและค่าความเที่ยง

Standard (mM)	Found value (mM)	Accuracy (% Recovery)	Precision (% RSD)
15	15.09 ± 0.21	100.57	1.39
30	30.03 ± 0.24	100.09	0.80
60	59.77 ± 0.24	99.62	0.40
80	79.83 ± 0.50	99.79	0.63

จากตารางที่ 4.5 เห็นได้ว่าสามารถหาค่าร้อยละการคืนกลับของสารละลายมาตรฐาน กรดดีกลูคูโรนิกได้เท่ากับ 99.62-100.57% และมีค่าความเที่ยงตั้งแต่ 0.40-1.39 ซึ่งเป็นค่าที่ยอมรับได้ และทำการศึกษาค่าร้อยละการคืนกลับของปรอทในตัวอย่างน้ำที่ 1 2 และ 3 จากนั้นนำไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-vis Spectrophotometer แสดงผลดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 ค่าร้อยละการคืนกลับและค่าความเที่ยงของตัวอย่าง

Sample	Concentration of D-Glucuronic Acid (mM)			% Recovery	% RSD
	Detected	Added	Found		
1	25.34 ± 0.70	5	30.31 ± 0.64	99.43	2.11
		15	40.31 ± 0.38	99.81	0.94
2	34.83 ± 0.26	5	39.89 ± 0.36	101.14	0.90
		15	49.86 ± 0.44	100.19	0.88
3	55.06 ± 0.36	5	60.00 ± 0.32	98.86	0.53
		15	70.03 ± 0.36	99.81	0.51

จากตารางที่ 4.6 ผลการศึกษาค่าร้อยละการคืนกลับของปรอทในตัวอย่างน้ำที่ 1 2 และ 3 สามารถทำได้โดยการนำตัวอย่างน้ำทั้ง 3 มาเป็นตัวทำละลายในการเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดดีกลูคูโรนิกที่ความเข้มข้น 25 35 และ 55 mM ตามลำดับ เหตุผลที่เลือกใช้ความเข้มข้นดังกล่าว เพราะเป็นความเข้มข้นที่อยู่ในช่วงของกราฟมาตรฐาน สามารถทำการทดลองได้สะดวก แล้วจึงใส่ลงไปใน AuNPs-PDADMAC จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-vis Spectrophotometer แล้วทำการ Spike สารละลายมาตรฐานกรดดีกลูคูโรนิกความเข้มข้น 5 และ 15 mM ลงในแต่ละตัวอย่างน้ำดังนั้น ตัวอย่างน้ำที่ 1 2 และ 3 สามารถหาค่าร้อยละการคืนกลับได้คือ 99.43-99.81%, 100.19-101.14% และ 98.86-99.81% ตามลำดับ จากค่าที่ได้แสดงให้เห็นว่าตัวรบกวนไม่ส่งผลต่อการวิเคราะห์ นอกจากนี้ค่าความแม่นยำของตัวอย่างทั้ง 3 ยังเป็นค่าที่สามารถยอมรับได้โดยอยู่ในช่วง 0.51-2.11

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

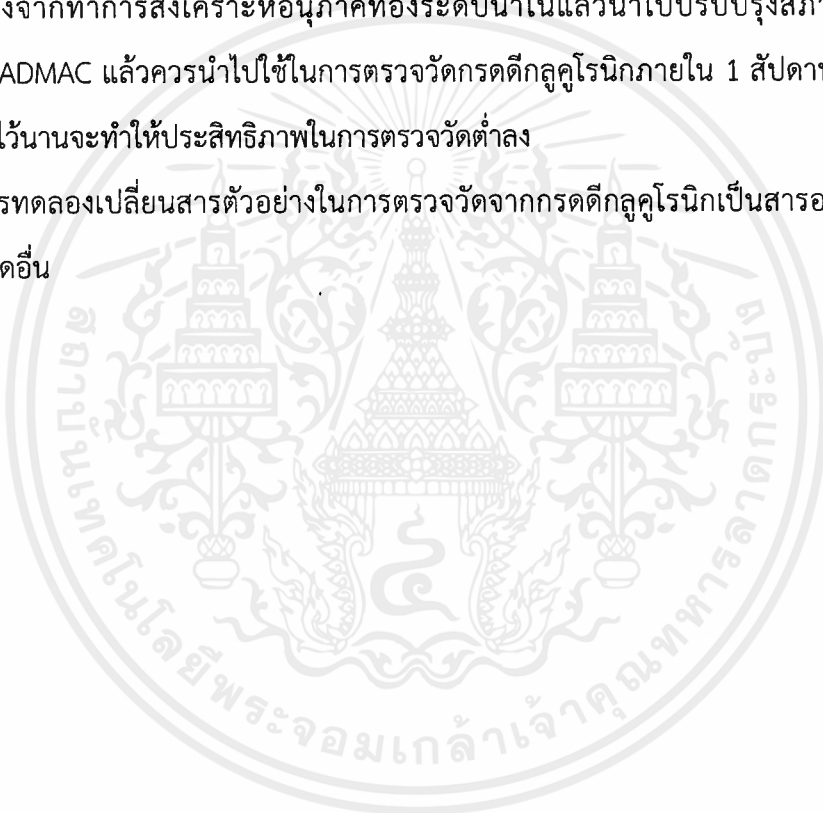
ในงานวิจัยนี้ได้ทำการแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ส่วนหลักดังต่อไปนี้ ส่วนที่ 1 คือ การศึกษาการสังเคราะห์ AuNPs-PDADMAC โดยการสังเคราะห์ AuNPs ด้วยวิธีเทอร์เควิช และปัจจัยที่มีผลในการสังเคราะห์ที่ผลได้ดี คือสารละลายโซเดียมซิติเรทที่ความเข้มข้น 15 mM เพราะเป็นความเข้มข้นที่ทำให้อนุภาคของระดับนาโนมีการกระจายตัวกันได้ดี และการปรับปรุงสภาพพื้นผิวของ AuNPs ด้วย PDADMAC เพื่อใช้ในการสังเคราะห์ AuNPs-PDADMAC ซึ่งความเข้มข้นของ PDADMAC ที่เหมาะสมคือ 0.1 M เนื่องจากที่ความเข้มข้นนี้เพียงพอต่อการปรับปรุงสภาพพื้นผิวของอนุภาคของระดับนาโนให้มีความไวต่อการวิเคราะห์กรดดีกลูคูโรนิกมากขึ้น โดยสารทั้งหมดที่สังเคราะห์ได้พิสูจน์เอกลักษณ์โดยใช้ UV-vis Spectrophotometer ในการศึกษาค่าการดูดกลืนแสง TEM ใช้ศึกษาลักษณะและการกระจายตัวของอนุภาค FTIR ศึกษาหมู่ฟังก์ชันของสาร ส่วนที่ 2 คือ การศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อการวิเคราะห์ กรดดีกลูคูโรนิก ได้แก่ การศึกษาผลของเวลาในการวิเคราะห์กรดดีกลูคูโรนิก ซึ่งเวลาที่เหมาะในการวิเคราะห์คือ 2 นาที การศึกษาผลของ pH โดยช่วง pH ที่สามารถทำการวิเคราะห์กรดดีกลูคูโรนิก ได้สมบูรณ์ที่สุด คือช่วง pH 6 และส่วนสุดท้าย คือ การศึกษาตัวแปรทางเคมีวิเคราะห์ โดยนำ AuNPs-PDADMAC ไปประยุกต์ใช้เป็นตัวรับรู้เชิงสีในการวิเคราะห์หาปริมาณกรดดีกลูคูโรนิก แล้วศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงจากกราฟมาตรฐานที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด 533 nm กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดดีกลูคูโรนิก ในช่วงความเข้มข้น 2-100 ppm โดยที่ได้สมการเส้นตรงคือ $y = -0.0035x + 0.9032$ ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) เท่ากับ 0.993 ค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดกรดดีกลูคูโรนิก มีค่าเท่ากับ 4.8857 ± 0.005 mM และค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์กรดดีกลูคูโรนิก มีค่าเท่ากับ 16.2857 ± 0.005 mM

5.2 ปัญหาและอุปสรรค

- 1) อนุภาคของระดับนาโนเกิดการตกตะกอน
- 2) สีของอนุภาคของระดับนาโนไม่เป็นสีแดงเลือดนก
- 3) อนุภาคของระดับนาโนที่ถูกปรับปรุงสภาพพื้นผิวมีประสิทธิภาพในการตรวจวัดกรดดีกลูคูโรนิกต่ำลงเมื่อตั้งทิ้งไว้นานกว่า 1 สัปดาห์

5.3 ข้อเสนอแนะเพิ่มเติม

- 1) ในขั้นตอนการสังเคราะห์อนุภาคของระดับนาโนต้องควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ในช่วง 85 องศาเซลเซียส และไม่ควรมากเกิน 90 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันการตกตะกอนของอนุภาคของระดับนาโนในขณะที่ทำการสังเคราะห์
- 2) ในขั้นตอนการสังเคราะห์อนุภาคของระดับนาโน ระหว่างเติมสารละลายโซเดียมซิเตรตต้องสังเกตช่วงสีให้ดีหรือทำการจับเวลาระหว่างช่วงที่สารละลายเปลี่ยนสีเพื่อทำซ้ำในครั้งต่อไปว่าสีของสารละลายทองเปลี่ยนเป็นสีแดงเลือดนกแล้วจึงควรหยุดด้วยการนำไปแช่ด้วยน้ำใสน้ำแข็ง
- 3) หลังจากทำการสังเคราะห์อนุภาคของระดับนาโนแล้วนำไปปรับปรุงสภาพพื้นผิวด้วย PDADMAC แล้วควรนำไปใช้ในการตรวจวัดกรดตึกคูโรนิกภายใน 1 สัปดาห์ เนื่องจากถ้าทิ้งไว้นานจะทำให้ประสิทธิภาพในการตรวจวัดต่ำลง
- 4) ควรทดลองเปลี่ยนสารตัวอย่างในการตรวจวัดจากกรดตึกคูโรนิกเป็นสารอนุพันธ์กลูโคสชนิดอื่น



เอกสารอ้างอิง

- [1] สำนักบริการวิชาการ มหาวิทยาลัยบูรพา. 2562. **กรดกลูคูโรนิก**. [Online]. Available : http://www.uniserv.buu.ac.th/forum2/topic.asp?TOPIC_ID=7278
- [2] บำรุง คงดี. 2562. **กรดกลูคูโรนิก**. [Online]. Available : http://webdb.dmsc.moph.go.th/ifc_toxic/a_tx_1_001c.asp?info_id=147
- [3] K. Petroll, A. Care, M. Waterstraat, P. Bergquist and A. Sunna. (2018). “Mixed-mode liquid chromatography for the rapid analysis of biocatalytic glucaric acid reaction pathways.” *Analytica Chimica Acta*.
- [4] S. Suzuki, M. Nakano, Y. Oda and K. Kakehi, (1998). “Analysis of Glucurono lactone and Glucuronic Acid in Drug Formulations by High-Performance Liquid Chromatography.” *Journal of Chromatographic Science*.
- [5] M. Martens, R. Roncucci, M.-J. Simon, K. Debast and G. Lambelin. (1978). “Mass spectral characterization of the glucuronic acid conjugate of a metabolite of suloctidil in the rhesus monkey”. *European journal of drug metabolism and pharmacokinetics* : 223-233.
- [6] นวภัทรา หนูนาถ. 2562. **Optical sensor**. [Online]. Available : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/7235/optical-sensor>
- [7] Pobpad. 2562. **D-Glucuronic acid**. [Online]. Available : <https://www.pobpad.com/kombucha>
- [8] ศูนย์เครือข่ายข้อมูลอาหารครบวงจร. 2562. **กรดดีกลูคูโรนิก**. [Online]. Available : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1489/acacia-gum-arabic>
- [9] ปิยนุสรณ์ น้อยด้วง. 2554. “กัมและมิวซิเลจจากพืช”. *วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม* 7(1).
- [10] eureka enviro steamer. 2562. **กรดกลูคูโรนิก**. [Online]. Available : http://eurekaenvirosteamerh.blogspot.com/2013/04/blog-post_10.html
- [11] Thpanorama. 2562. **บิลิรูบิน**. [Online]. Available : <https://th.thpanorama.com/articles/medicina/manos-amarillas-causas-y-tratamientotratamiento.html>
- [12] สถาบันนวัตกรรมและพัฒนากระบวนการเรียนรู้. 2562. **Red shift and blue shift**. [Online]. Available : <https://il.mahidol.ac.th/e-media/color->

light/page3_3.html

- [13] วารสารวิทยาศาสตร์. 2562. เซอร์เฟสพลาสมอนเรโซแนนซ์. [Online]. Available : http://scijournal.kku.ac.th/files/Vol_41_No_4_P_859-872.
- [14] SPR. [Online]. Available : <https://api.intechopen.com/media/chapter/51493/media/fig1.png>
- [15] N. Chen, H. Liu, Y. Zhang, Z. Zhou, W. Fan, G. Yu, Z. Shena and A. Wu. (2018). "A colorimetric sensor based on citrate-stabilized AuNPs for rapid pesticide residue detection of terbutylazine and dimethoate." *Sensors and Actuators B* 255 : 3093–3101.
- [16] M. Reza Hormozi-Nezhad and S. AbbasiMoayed. (2014). "A sensitive and selective colorimetric method for detection of copper ions based on antiaggregation of unmodified gold nanoparticles." *Talanta*.
- [17] H. Wu, Y. Li, X. He, L. Chen, and Y. Zhang. (2019). "Colorimetric sensor based on 4-mercaptophenylboronic modified gold nanoparticles for rapid and selective detection of fluoride anion." *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 214 393–398.
- [18] Muntuwenkosi, M. et al. 2011. "Synthesis of PVP capped gold nanoparticles by the UV-irradiation technique." *Materials Letters* 65 : 2844-2847.
- [19] Y. Liu, Y. Liu, L. Xu, J. Li, X. Liu, J. Liu and G. Li. (2017). "Highly selective, colorimetric detection of Hg²⁺ based on three color changes of AuNPs solution from red through sandy beige to celandine green." *Sensors and Actuators B* 249 : 331–338.
- [20] Food Network Solution. 2562. ปฏิกริยารีดักชันทางเคมี. [Online]. Available : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0557/oxidation-reaction->
- [21] S. Link and M. El-Sayed. (1999). "Size and Temperature Dependence of the Plasmon Absorption of Colloidal Gold Nanoparticles." *J. Phys. Chem. B* : 4212-4217.
- [22] M. Teimouri, F. Khosravinejad, F. Attar, A. Saboury, I. Kostova, G. Benelli and M. Falahati. "Gold nanoparticles fabrication by plant extracts: synthesis, characterization, degradation of 4-nitrophenol from industrial wastewater, and insecticidal activity." A review, *Journal of Cleaner Production*.
- [23] L. Li, P. Zhang, W. Fu, M. Yang and Y. Wanga. (2018). "Use of seed-mediated

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- growth of bimetallic nanorods as a knob for antioxidant assay.” *Sensors and Actuators B: Chemical* 276 : 158-165.
- [24] D. Philip. “Synthesis and spectroscopic characterization of gold nanoparticles.” *Spectrochim. Acta.* 80-85.
- [25] นาโนเทค. 2562. **หลักการการทำงานของเครื่อง UV.** [Online]. Available : https://www2.nanotec.or.th/th/?page_id=575
- [26] **Uv-vis spectrophotometer.** [Online]. Available : <https://3.bp.blogspot.com/-TY4NyEMHAmA/Wal8fdjmGUI/AAAAAAAAAEM/MgUZvYoK53MmmggycvOFNN2zWukjW1thACEwYBhgL/s1600/PP2.JPG>
- [27] วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี. 2562. **เครื่อง TEM.** [Online]. Available : [https://th.wikipedia.org/wiki/_\(TEM\)](https://th.wikipedia.org/wiki/_(TEM))
- [28] **TEM.** [Online]. Available : [https://il.mahidol.ac.th/e-media/nano/Picture/SEM_principle\(edit\).jpg](https://il.mahidol.ac.th/e-media/nano/Picture/SEM_principle(edit).jpg)
- [29] คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2562. **เครื่อง FT-IR.** [Online]. Available : <http://www.env.eng.chula.ac.th/?q=content/fourier-transform-infrared-spectrometer>
- [30] บริษัท พาราไซแอนติฟิค จำกัด. 2562. **เครื่อง FT-IR.** [Online]. Available : <http://www.barascientific.com/products/shimadzu/analytical/spectro/thai/FTIR.php>
- [31] **FT-IR.** [Online]. Available : http://share.psu.ac.th/system/assets/media/Files/000/023/775/original_IR_dispersive.JPG?1306828677
- [32] **ฐานข้อมูลโครงสร้างพื้นฐานรัฐด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.** 2562. **เครื่องวัดศักย์ไฟฟ้า.** [Online]. Available : http://stdb.most.go.th/equipment_detail.
- [33] จิระพงศ์ อารินทร์. 2562. **Zeta Potential.** [Online]. Available : www.chem.science.cmu.ac.th/userfiles/file/zeta_potential
- [34] **Zeta Potential.** [Online]. Available : https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/eb/Gold_nanoparticle_Zeta-potential.png
- [35] M. Benera, F. Şena and R. Apaka. (2018). “Heparin-stabilized goldnanoparticles-based CUPRACcolorimetric sensorfor antioxidant capacity measurement.” *Talanta* 187 : 148-155.
- [36] S. Sankoh, C. Thammakhet, A. Numnuam, W. Limbut, P. Kanatharana and P. Thavarungkul. (2016) “4-mercaptophenyl boronic acid functionalized gold nanoparticles for colorimetric sialic acid detection.” *Biosensors and*

Bioelectronics 85 : 743–750.

- [37] S. Jongjinakool, K. Palasak, N. Bousod and S. Teepoo. (2014). “Gold nanoparticles-based colorimetric sensor for cysteine detection.” *Energy Procedia* 56 : 10–18.
- [38] H. Zhanga, F. Li, H. Chena, Y. Maa, S. Qi, X. Chena and L. Zhou. (2015). “AuNPs colorimetric sensor for detecting platelet-derived growth factor-BB based on isothermal target-triggering strand displacement amplification.” *Sensors and Actuators B* 207 : 748–755.
- [39] K. Petroll, A. Care, M. Waterstraat, P. Bergquist and A. Sunna. (2018). “Mixed-mode liquid chromatography for the rapid analysis of biocatalytic glucaric acid reaction pathways.” *Analytica Chimica Acta*.
- [40] I. Ojea-Jimenez, F. Romero, N. Bastu’s and V. Puentes. (2010). “Small Gold Nanoparticles Synthesized with Sodium Citrate and Heavy Water: Insights into the Reaction Mechanism.” *J. Phys. Chem. C* : 1800–1804.
- [41] D. Lorenz, N. Erasmy, Y. Akil and B. Saake. (2016). “A new method for the quantification of monosaccharides, uronic acids and oligosaccharides in partially hydrolyzed xylans by HPAEC-UV/VIS.” *Carbohydrate Polymers* 140 : 181–187.
- [42] The Matabolomics Innovation Centre. 2562. D-Glucuronic acid. [Online]. Available : <http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB0000127>
- [43] พาณี ศิริสะอาด. 2562. กรดกลูคูโรนิก. [Online]. Available : http://donot6.com/madikombucha/academic_information_detail.php?lg=th
- [44] A. Moreira, C. Rodrigues, C. Reisa, E. Costa and I. Correiaa. (2018). “Gold-core silica shell nanoparticles application in imaging and therapy: A review.” *Microporous and Mesoporous Materials*. 279 : 168-179.
- [45] J. Li, H. Feng, J. Li, Y. Feng, Y. Zhang, J. Jiang and D. Qian. (2015). “Fabrication of gold nanoparticles-decorated reduced graphene oxide as a high performance electrochemical sensing platform for the detection of toxicant Sudan I.” *Electrochimica Acta* 167 : 226–236.
- [46] B. Kuang, X. Zhao, C. Zhou, W. Zeng, J. Ren, B. Ebert, C. Beahan, X. Deng, Q. Zeng, G. Zhou, M. Doblin, J. Heazlewood, A. Bacic, X. Chen and A. Wu. (2016). “The role of UDP-glucuronic acid decarboxylase (UXS) in xylan biosynthesis in Arabidopsis.” *Molecular plant*.

- [47] J. Stapley and J. BeMiller. (2007). "The Hofer–Moest decarboxylation of D-glucuronic acid and D-glucuronosides." Carbohydrate Research 342.
- [48] B. Bartosewicz, K. Bujno, M. Liszewska, B. Budner, P. Bazarnek, T. Płociński and B. Jankiewicz. (2018). "Effect of Citrate Substitution by Various alpha-Hydroxycarboxylate Anions on Properties of Gold Nanoparticles Synthesized by Turkevich Method." Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects.
- [49] J. Duke, I. Goldstein and A. Misaki. (1972). "D-Glucuronic acid: A non-inhibitor of the concanavalin A system." Biochimica et biophysica acta.
- [50] R. Wojcieszak, M. Iolanda, M. Cuccovia, A. Arcia, S. Liane and M. Rossi (2016). "Selective oxidation of glucose to glucuronic acid by cesium-promoted gold nanoparticle catalyst." Journal of Molecular Catalysis A : Chemical.
- [51] Y. Zhang, J. Jiang, M. Li, P. Gao, Y. Zhou, G. Zhang, S. Shuang and C. Dong. (2016). "Colorimetric sensor for cysteine in human urine based on novel gold nanoparticles." Talanta 61 : 520–527.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารละลาย

การเตรียมสารละลายเตตระคลอโรอโรเอทไตรไฮเดรต ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) ความเข้มข้น 1.0 mM

$$\frac{g}{Mw} = \frac{CV}{1000}$$

$$\frac{g}{393.83 \text{ g/mol}} = \frac{(1 \times 10^{-3} \text{ M})(100 \text{ mL})}{1000}$$

$$g = 0.0393 \text{ g}$$

ดังนั้น ชั่งน้ำหนักของเตตระคลอโรอโรเอทไตรไฮเดรต 0.0393 g ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 mL จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน (DI water) จะได้สารละลายเตตระคลอโรอโรเอทไตรไฮเดรตความเข้มข้น 1.0 mM ปริมาตร 100 mL

การเตรียมสารละลายโซเดียมซิเตรทไตรเบสิกไดไฮเดรต ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ความเข้มข้น 10 15 20 และ 30 mM

ที่ความเข้มข้น 10 mM

$$\frac{g}{Mw} = \frac{CV}{1000}$$

$$\frac{g}{294.10 \text{ g/mol}} = \frac{(10 \times 10^{-3} \text{ M})(25 \text{ mL})}{1000}$$

$$g = 0.0735 \text{ g}$$

ที่ความเข้มข้น 15 mM

$$\frac{g}{Mw} = \frac{CV}{1000}$$

$$\frac{g}{294.10 \text{ g/mol}} = \frac{(15 \times 10^{-3} \text{ M})(25 \text{ mL})}{1000}$$

$$g = 0.1102 \text{ g}$$

ที่ความเข้มข้น 20 mM

$$\frac{g}{Mw} = \frac{CV}{1000}$$

$$\frac{g}{294.10 \text{ g/mol}} = \frac{(20 \times 10^{-3} \text{ M})(25 \text{ mL})}{1000}$$

$$g = 0.1470 \text{ g}$$

ที่ความเข้มข้น 30 mM

$$\frac{g}{Mw} = \frac{CV}{1000}$$

$$\frac{g}{294.10 \text{ g/mol}} = \frac{(30 \times 10^{-3} \text{ M})(25 \text{ mL})}{1000}$$

$$g = 0.2205 \text{ g}$$

ดังนั้นชั่งน้ำหนักของโซเดียมซิเตรทไตรเบสิกไดไฮเดรต 0.0735 0.1102 0.1470 และ 0.2205 g ตามลำดับ ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 mL จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน (DI water) จะได้สารละลายโซเดียมซิเตรทไตรเบสิกไดไฮเดรตความเข้มข้น 10 15 20 และ 30 mM ปริมาตร 25 mL

การเตรียมสารละลายโพลีไดแอลลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ (PDADMAC) ความเข้มข้น 1.0 M

ที่ความเข้มข้น 1.0 M

$$C = \frac{\%10d}{Mw}$$

$$C = \frac{(20)(10)(1.04)}{161.5}$$

$$C = 1.287 \text{ M}$$

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$(1.287 \text{ M})(V_1) = (1 \text{ M})(25 \text{ mL})$$

$$V_1 = 19.43 \text{ mL}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้น ปิเปตสารละลายโพลีไดแอลกลีโคไลเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ปริมาตร 19.43 mL จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน (DI water) จะได้สารละลายโพลีไดแอลกลีโคไลเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1.0 M ปริมาตร 25 mL

การเตรียมสารละลายโพลีไดแอลกลีโคไลเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ (PDADMAC) ความเข้มข้น 0.00001 0.0001 0.001 0.005 0.01 0.02 0.1 0.2 และ 0.3 M

$$\text{จากสูตร } C_1V_1 = C_2V_2$$

ที่ความเข้มข้น 0.3 M

$$(1.0 \text{ M})(V_1) = (0.3 \text{ M})(50 \text{ mL})$$

$$V_1 = 15 \text{ mL}$$

ที่ความเข้มข้น 0.2 M

$$(0.3 \text{ M})(V_1) = (0.2 \text{ M})(50 \text{ mL})$$

$$V_1 = 33.33 \text{ mL}$$

ที่ความเข้มข้น 0.1 M

$$(0.2 \text{ M})(V_1) = (0.1 \text{ M})(50 \text{ mL})$$

$$V_1 = 25 \text{ mL}$$

ที่ความเข้มข้น 0.02 M

$$(0.1 \text{ M})(V_1) = (0.02 \text{ M})(50 \text{ mL})$$

$$V_1 = 10 \text{ mL}$$

ที่ความเข้มข้น 0.01 M

$$(0.02 \text{ M})(V_1) = (0.01 \text{ M})(50 \text{ mL})$$

$$V_1 = 25 \text{ mL}$$

ที่ความเข้มข้น 0.005 M

$$(0.01 \text{ M})(V_1) = (0.005 \text{ M})(50 \text{ mL})$$

$$V_1 = 25 \text{ mL}$$

ที่ความเข้มข้น 0.001 M

$$(0.005 \text{ M})(V_1) = (0.001 \text{ M})(50 \text{ mL})$$

$$V_1 = 10 \text{ mL}$$

ที่ความเข้มข้น 0.0001 M

$$(0.001 \text{ M})(V_1) = (0.0001 \text{ M})(50 \text{ mL})$$

$$V_1 = 5 \text{ mL}$$

ที่ความเข้มข้น 0.00001 M

$$(0.0001 \text{ M})(V_1) = (0.00001 \text{ M})(50 \text{ mL})$$

$$V_1 = 5 \text{ mL}$$

ดังนั้น ปิเปตสารละลายโพลีไดแอลลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ปริมาตร 0.0005 0.005 0.05 0.25 0.5 1 5 10 และ 15 mL จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน (DI water) จะได้สารละลายโพลีไดแอลลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.00001 0.0001 0.001 0.005 0.01 0.02 0.1 0.2 และ 0.3 M ปริมาตร 50 mL

การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดดีกลูโคโรนิก (D-GlcA) ความเข้มข้น 100 mM

$$\frac{g}{M_w} = \frac{CV}{1000}$$

$$\frac{g}{234.14 \text{ g/mol}} = \frac{(100 \times 10^{-3} \text{ M})(100 \text{ mL})}{1000}$$

$$g = 2.3414 \text{ g}$$

ดังนั้น ชั่งกรดดีกลูโคโรนิก 2.3414 g จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน (DI water) จะได้สารละลายมาตรฐานกรดดีกลูโคโรนิกความเข้มข้น 100 mM ปริมาตร 100 mL

การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดดีกลูโคโรนิก (D-GlcA) ความเข้มข้น 2 10 20 30 50 60 และ 80 mM

$$\text{จากสูตร } C_1V_1 = C_2V_2$$

ที่ความเข้มข้น 80 M

$$(100 \text{ mM})(V_1) = (80 \text{ mM})(50 \text{ mL})$$

$$V_1 = 40 \text{ mL}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ความเข้มข้น 60 M

$$(80 \text{ mM})(V_1) = (60 \text{ mM})(50 \text{ mL})$$

$$V_1 = 37.5 \text{ mL}$$

ที่ความเข้มข้น 50 M

$$(60 \text{ mM})(V_1) = (50 \text{ mM})(50 \text{ mL})$$

$$V_1 = 41.67 \text{ mL}$$

ที่ความเข้มข้น 30 M

$$(50 \text{ mM})(V_1) = (30 \text{ mM})(50 \text{ mL})$$

$$V_1 = 30 \text{ mL}$$

ที่ความเข้มข้น 20 M

$$(30 \text{ mM})(V_1) = (20 \text{ mM})(50 \text{ mL})$$

$$V_1 = 33.33 \text{ mL}$$

ที่ความเข้มข้น 10 M

$$(20 \text{ mM})(V_1) = (10 \text{ mM})(50 \text{ mL})$$

$$V_1 = 25 \text{ mL}$$

ที่ความเข้มข้น 2 M

$$(10 \text{ mM})(V_1) = (2 \text{ mM})(50 \text{ mL})$$

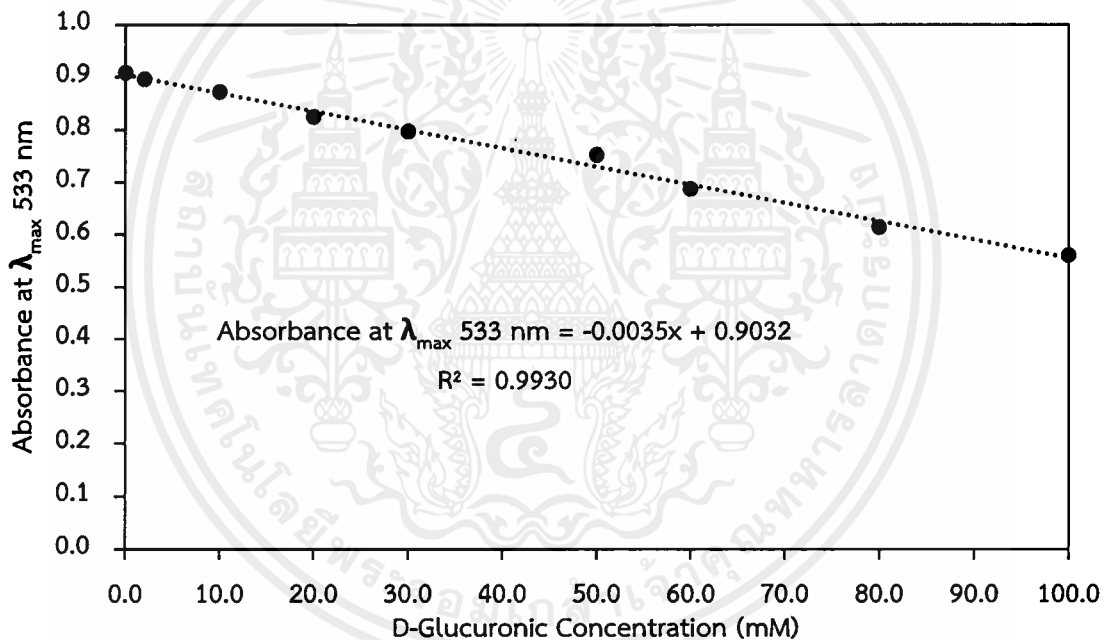
$$V_1 = 10 \text{ mL}$$

ดังนั้น ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดดีกลูโคโรนิกปริมาตร 1 5 10 15 25 30 และ 40 mL จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน (DI water) จะได้สารละลายมาตรฐานกรดดีกลูโคโรนิกความเข้มข้น 2 10 20 30 50 60 และ 80 mM ปริมาตร 50 mL

ภาคผนวก ข

การคำนวณหาค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดกรดดีกลูคูโรนิก (LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์กรดดีกลูคูโรนิก (LOQ)

ทำการศึกษาค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดและขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ของอนุภาคทองระดับนาโนที่ถูกปรับปรุงสภาพพื้นผิวด้วยโพลีไดแอลลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ที่เป็นตัวตรวจวัดเชิงสีในการวิเคราะห์กรดดีกลูคูโรนิก ซึ่งมีสมการเชิงเส้นและสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเท่ากับ Absorbance at λ_{\max} 533 nm = - 0.0035x + 0.9032 $R^2 = 0.9930$



ตารางที่ ข.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนที่ถูกปรับปรุงสภาพพื้นผิวด้วยโพลีไธแอลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ที่ความยาวคลื่น 533 nm

ครั้งที่	Absorbance at λ_{\max} 533 nm (a.u.)
1	0.908
2	0.9047
3	0.9007
4	0.9101
5	0.9135
6	0.9151
7	0.8978
8	0.9046
9	0.8998
10	0.9046
Average	0.9059
S.D.	0.005

$$\text{LOD} = \frac{3 \text{ S.D. of Blank}}{\text{Slope of Calibration Curve}}$$

$$= \frac{3 \times 0.005}{0.0035}$$

$$= 4.8857 \text{ mM}$$

$$\text{LOQ} = \frac{10 \text{ S.D. of Blank}}{\text{Slope of Calibration Curve}}$$

$$= \frac{10 \times 0.005}{0.0035}$$

$$= 16.2857 \text{ mM}$$

ดังนั้น ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดและ
ขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์มีค่าคือ 4.8857
และ 16.2857 mM

การคำนวณค่าร้อยละการคืนกลับ (% Recovery) และความเที่ยง (% RSD)

ตารางที่ ข.2 แสดงค่าการตรวจวัดกรดดีกลูคูโรนิกที่ความเข้มข้นต่างๆด้วยอนุภาคของระดับนาโนที่ถูกปรับปรุงสภาพพื้นผิวด้วยโพลีไดแอลลิลไดเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ เพื่อนำมาคำนวณหาค่าร้อยละการคืนกลับและความเที่ยง

Standard (mM)	Found Value (mM)	Accuracy (% Recovery)	Precision (% RSD)
15	15.09 ± 0.21	100.57	1.39
30	30.03 ± 0.24	100.09	0.80
60	59.77 ± 0.24	99.62	0.40
80	79.83 ± 0.50	99.79	0.63

ตัวอย่างการคำนวณ : สารละลายมาตรฐานของกรดดีกลูคูโรนิกที่ความเข้มข้น 15 mM

$$\begin{aligned} \% \text{ Recovery} &= \frac{\text{Spiked Sample} - \text{Sample}}{\text{Standard}} \times 100 \\ &= \frac{15.09 - 0}{15} \times 100 \\ &= 100.57 \\ \% \text{ RSD} &= \frac{\text{S.D.}}{\bar{x}} \times 100 \\ &= \frac{0.21}{15.09} \times 100 \\ &= 1.39 \end{aligned}$$

ดังนั้นค่าร้อยละการคืนกลับของสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้น 15 30 60 และ 80 mM มีค่าเท่ากับ 100.57 100.09 99.62 และ 99.79% ตามลำดับ ส่วนค่าความเที่ยงที่ความเข้มข้นเดียวกันมีค่าเท่ากับ 1.39 0.80 0.40 และ 0.63% ตามลำดับ

การคำนวณหาค่าร้อยละการคืนกลับและค่าความเที่ยงของการตรวจวัดกรดดีกลูคูโรนิกในตัวอย่าง
น้ำ 1 2 และ 3

ตารางที่ ข.3 แสดงค่าการตรวจวัดกรดดีกลูคูโรนิกในตัวอย่างน้ำ 1 2 และ 3 เพื่อคำนวณหาค่าร้อยละการคืนกลับและความเที่ยง

Sample	Concentration of D-Glucuronic acid (mM)			% Recovery	% RSD
	Detected	Added	Found		
1	25.34 ± 0.70	5	30.31 ± 0.64	99.43	2.11
		15	40.31 ± 0.38	99.81	0.94
2	34.83 ± 0.26	5	39.89 ± 0.36	101.14	0.90
		15	49.86 ± 0.44	100.19	0.88
3	55.06 ± 0.36	5	60.00 ± 0.32	98.86	0.53
		15	70.03 ± 0.36	99.81	0.51

ตัวอย่างการคำนวณ : % Recovery และ % RSD ของกรดดีกลูคูโรนิกในตัวอย่างน้ำ 1 ที่ทำการ
Spike กรดดีกลูคูโรนิกที่ความเข้มข้น 25 mM ลงไป

$$\begin{aligned} \text{\% Recovery} &= \frac{\text{Spiked Sample} - \text{Sample}}{\text{Standard}} \times 100 \\ &= \frac{30.31 - 25.34}{5} \times 100 \\ &= 99.43 \\ \text{\% RSD} &= \frac{\text{S.D.}}{\bar{x}} \\ &= \frac{0.64}{30.31} \times 100 \\ &= 2.11 \end{aligned}$$

ดังนั้นค่าร้อยละการคืนกลับของสารตัวอย่าง 1 2 และ 3 มีค่าเท่ากับ 99.43 99.81 101.14
100.19 98.86 และ 99.81% ตามลำดับ ส่วนค่าความเที่ยงของสารตัวอย่าง 1 2 และ 3 มีค่าคือ 2.11
0.94 0.90 0.88 0.53 และ 0.51 ตามลำดับ

ภาคผนวก ค

ประวัติผู้วิจัย



ชื่อ-สกุล นางสาวพรพร พรหมสาขา ณ สกลนคร
 วัน เดือน ปีเกิด 4 สิงหาคม 2540
 ประวัติการศึกษา
 ระดับมัธยมศึกษา โรงเรียนเซนต์ฟรังซิสเซเวียร์
 ระดับปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเคมี
 อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอม
 เกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง



ชื่อ-สกุล นางสาวอารีญาณ์ สมเสมียน
 วัน เดือน ปีเกิด 13 กุมภาพันธ์ 2540
 ประวัติการศึกษา
 ระดับมัธยมศึกษา โรงเรียนสตรีราชินูทิศ จังหวัดอุดรธานี
 ระดับปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเคมี
 อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอม
 เกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง