

การสังเคราะห์และประยุกต์ใช้นาโนภาคทองคำ เพื่อตรวจวัดกลูโคส
ด้วยตาเปล่าในปัสสาวะแบบกึ่งเชิงปริมาณ

SYNTHESIS AND APPLICATION OF GOLD NANOPARTICLES
TO SEMI - QUANTITATIVE ANALYSIS OF URINARY GLUCOSE
BY NAKED - EYE



นางสาวเกศสุดา เบสูงเนิน
นางสาวสุกัญญา วงษ์เสถียร
นางสาวสุมาลี ทรัพย์ธนพงษ์

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาเคมีอุตสาหกรรม

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2557

การสังเคราะห์และประยุกต์ใช้อนุภาคทองคำนาโน เพื่อตรวจวัดกลูโคส
ด้วยตาเปล่าในปัสสาวะแบบกึ่งเชิงปริมาณ

SYNTHESIS AND APPLICATION OF GOLD NANOPARTICLES
TO SEMI - QUANTITATIVE ANALYSIS OF URINARY GLUCOSE
BY NAKED - EYE



นางสาวเกศสุดา เบสูงเนิน
นางสาวสุกัญญา วงษ์เสถียร
นางสาวสุมาลี ทรัพย์ธนพงษ์

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาเคมีอุตสาหกรรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้ง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ขอสงวนสิทธิ์ในการนำเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปีการศึกษา 2557

SYNTHESIS AND APPLICATION OF GOLD NANOPARTICLES
TO SEMI - QUANTITATIVE ANALYSIS OF URINARY GLUCOSE
BY NAKED - EYE



A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE
IN INDUSTRIAL CHEMISTRY
DEPARTMENT OF CHEMISTRY

FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2014

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานในห้องเรียนเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดเบบสงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ

การสังเคราะห์และประยุกต์ใช้อนุภาคทองคำนาโน เพื่อตรวจวัดกลูโคสด้วยตาเปล่าในปัสสาวะแบบกึ่งเชิงปริมาณ
Synthesis and application of gold nanoparticles to semi – quantitative analysis of urinary glucose by naked - eye

ชื่อนักศึกษา

นางสาวเกศสุดา เบสูงเนิน รหัสนักศึกษา 54050137
นางสาวสุกัญญา วงษ์เสถียร รหัสนักศึกษา 54050299
นางสาวสุมาลี ทรัพย์ธนพงษ์ รหัสนักศึกษา 54050316

ปริญญา

วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)

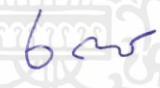

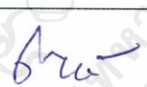
ภาควิชา

เคมี

อาจารย์ที่ปรึกษา

ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชั้น

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม ประจำปีการศึกษา 2557

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ดร. เสาวภาคย์ อีราตรง ประธานกรรมการ	
ดร. เอกรัฐ เดชศรี กรรมการ	
ดร. ณัฐวุฒิ เชิงชั้น กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกสิ่งนี้เพื่อทำซ้ำหรือส่งต่อให้ผู้อื่นเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

หัวข้อโครงการพิเศษ	การสังเคราะห์และประยุกต์ใช้ออนุภาคทองคำนาโน เพื่อตรวจวัดกลูโคสด้วยตาเปล่าในปัสสาวะแบบกึ่งเชิงปริมาณ		
ชื่อนักศึกษา	นางสาวเกศสุดา เบสูงเนิน	รหัสนักศึกษา	54050137
	นางสาวสุกัญญา วงษ์เสถียร	รหัสนักศึกษา	54050299
	นางสาวสุมาลี ทรัพย์ธนพงษ์	รหัสนักศึกษา	54050316
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)		
ภาควิชา	เคมี		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.ณัฐวดี เชิงชั้น		

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ นำเสนอการสังเคราะห์อนุภาคทองคำระดับนาโน (AuNPs) โดยใช้วิธีเตอร์กิวซ์และการประยุกต์ใช้เพื่อวิเคราะห์ปริมาณกลูโคส โดยอาศัยเทคนิค ยูวี – วิซิเบิลสเปกโทรโฟโตเมตรี การสังเคราะห์อนุภาคทองคำระดับนาโนทำภายใต้ระบบเปิดที่อุณหภูมิ 97 องศาเซลเซียส โดยการรีดิวซ์สารละลายทองด้วยสารละลายไตรโซเดียมซิเตรต สารละลายจะเปลี่ยนสีจากสีเหลืองอ่อนไปเป็นสีแดง ทั้งให้สารละลายเย็นจนถึงอุณหภูมิห้องก่อนนำไปใช้ ศึกษาคุณสมบัติทางแสงด้วยเครื่อง ยูวี – วิซิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ พบว่าค่าความยาวคลื่นสูงสุดของอนุภาคทองคำระดับนาโนที่สามารถดูดกลืนได้ (λ_{max}) อยู่ที่ 518 นาโนเมตร

การวิเคราะห์ปริมาณกลูโคส อาศัยการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ลดลงที่ความยาวคลื่น 518 นาโนเมตรในขณะเดียวกับค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร เนื่องจากการรวมตัวกัน (aggregation) ของอนุภาคทองคำระดับนาโน ทำให้สีของสารละลายเปลี่ยนไปจากสีแดงเป็นสีม่วง ผลการศึกษาพบว่าเทคนิค ยูวี – วิซิเบิลสเปกโทรโฟโตเมตรีสามารถวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสได้ในช่วง 0 – 300 มิลลิโมลต่อลิตร โดยมีความเป็นเส้นตรงที่พอยอมรับได้ ($y = 0.0014x + 0.3232, R^2 = 0.9834$) มีความเที่ยงสูง (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับร้อยละ 3.08) ได้ประยุกต์ใช้วิธีนี้เพื่อหาปริมาณกลูโคสในตัวอย่างปัสสาวะของอาสาสมัครซึ่งเป็นคนปกติ ที่มีการเติมกลูโคสลงไปโดยอาศัยการตรวจวัดด้วยตาเปล่า แล้วเปรียบเทียบกับผลวิเคราะห์กับผลที่ได้เมื่อใช้เครื่อง UV-Visible Spectrophotometer โดยใช้ปฏิกิริยาเดียวกันในการตรวจวัด พบว่าทั้งสองวิธีให้ผลวิเคราะห์ที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จากผลการศึกษาทั้งหมด จึงกล่าวได้ว่าวิธีการตรวจวัดกลูโคสในปัสสาวะโดยการสังเกตด้วยตาเปล่านี้ มีประสิทธิภาพ

คำสำคัญ : อนุภาคทองคำนาโน, กลูโคส, ปัสสาวะ, การหาปริมาณ, การวิเคราะห์ด้วยตาเปล่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Synthesis and application of gold nanoparticles to semi – quantitative analysis of urinary glucose by naked - eye		
Students	Miss Kedsuda	Basungnoen	Student ID 54050137
	Miss Sukanya	Wongsathien	Student ID 54050299
	Miss Sumalee	Supthanaphong	Student ID 54050316
Degree	Bachelor of Science (Industrial Chemistry)		
Department	Chemistry		
Academic Year	2014		
Advisor	Dr. Nathawut Choengchan		

ABSTRACT

This work presents a synthesis of gold nanoparticles (AuNPs) using Turkevich method and its application to glucose determination by UV – Visible spectrophotometry. The gold nanoparticles were prepared under open air at 97°C by the reduction of gold solution using trisodium citrate. The color of solution has changed from light-yellow to red. The AuNPs were optically characterized by UV – Visible Spectrophotometer. The maximum absorption wavelength (λ_{max}) was located at 518 nm.

Detection principle for determination of glucose is based on measuring the absorbance of gold nanoparticles with glucose. Due to aggregation of the nanoparticles, the absorbance at 518 nm was decreased and a new absorption peak at 650 nm was developed. The color of solution has changed from red to purple. Satisfied linearity ($y = 0.0014x + 0.3232$, $R^2 = 0.9834$) was achieved in the concentration range of standard glucose ranging from 0 to 300 mM. Good precision was observed (RSD = 3.08 %). This method was applied to spiked urine samples of normal volunteers. The results were compared to the ones obtained by UV-Vis spectrophotometer with the same detection reaction. The results agreed very well. This indicated that the naked-eye method was effective to measure of glucose in urine.

Keywords : Gold nanoparticles, Glucose, Urine, Determination, Naked-eye detection

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษเล่มนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ด้วยได้รับความกรุณาจาก อาจารย์ที่ปรึกษา ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชั้น อาจารย์ประจำสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้คำแนะนำ คำปรึกษาและความเอาใจใส่ในทุกๆขั้นตอนของการดำเนินงานวิจัย ซึ่งผู้เขียนต้องขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบคุณ กรรมการสอบปริญญาโท ดร.เสาวภาคย์ ธีราทรง และ ดร.เอกรัฐ เดชศรี ที่ให้คำแนะนำเกี่ยวกับการสังเคราะห์ และ การเกิดอันตรกิริยาของอนุภาคทองระดับนาโน รวมถึงชี้แนะแนวทางในการจัดทำรูปเล่มปริญญาโทให้ถูกต้องและเรียบร้อย

ขอขอบคุณ นักวิทยาศาสตร์ เจ้าหน้าที่ภาคเคมีทุกๆท่าน และหน่วยวิจัยเคมีวิเคราะห์เชิงประยุกต์ ที่เอื้อเฟื้อความสะดวกในเรื่องอุปกรณ์และสารเคมี ตลอดจนเครื่องมือต่างๆ

ขอขอบคุณ นายอาจณรงค์ มารวีสรรเสริญ และ นางสาวอรฉัตร เลิศอิทธิพร ที่ให้ความรู้แนวทาง คำปรึกษาและความช่วยเหลือในการทำงานวิจัย ทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และหน่วยวิจัยเคมีวิเคราะห์เชิงประยุกต์ ที่ช่วยแนะนำเทคนิคในการใช้เครื่องมือในการวิเคราะห์ รวมถึงความอนุเคราะห์สารเคมี เครื่องมือและสถานที่สำหรับการทำการวิเคราะห์ในงานวิจัยนี้

ขอขอบคุณ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง สำหรับความอนุเคราะห์น้ำปราศจากไอออนที่ใช้ในการทำการวิจัย

ขอขอบคุณบิดา มารดา และครอบครัว เป็นอย่างยิ่งที่คอยสนับสนุน ให้กำลังใจผู้เขียนเสมอมา

สุดท้ายนี้ ขอขอบคุณ พี่ๆเพื่อนๆทุกท่านสำหรับความช่วยเหลือต่างๆและกำลังใจ ทำให้งานวิจัยดำเนินไปด้วยดี

นางสาวเกศสุดา เบสูงเนิน
นางสาวสุกัญญา วงษ์เสถียร
นางสาวสุมาลี ทรัพย์ธนพงษ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญรูปภาพ.....	ฉ
สัญลักษณ์และคำย่อ.....	ญ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 ข้อมูลเกี่ยวกับน้ำตาลกลูโคส.....	4
2.1.1 น้ำตาลกลูโคส (Glucose).....	4
2.1.2 โครงสร้างและสมบัติทางกายภาพของน้ำตาลกลูโคส.....	4
2.1.3 ประโยชน์ของน้ำตาลกลูโคส.....	5
2.1.4 โทษของน้ำตาลกลูโคส.....	5
2.1.5 โรคเบาหวาน (Diabetes).....	6
2.2 อนุภาคทองระดับนาโน.....	8
2.2.1 การสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนแบบทรงกลม.....	8
2.2.2 สมบัติของทองคำแบบก้อน.....	9
2.2.3 พื้นที่ผิวต่อปริมาตรและความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยาเคมี.....	9
2.3 เซอร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์ (surface plasmon resonance).....	10
2.4 การเปลี่ยนสีของอนุภาคนาโนทองคำ ในเชิง SPR.....	13
2.5 หลักการตรวจวัด.....	14
2.5.1 โครงสร้างของ 3-aminophenylboronic acid (APBA).....	14
2.5.2 การศึกษาการตรวจวัดกลูโคสที่พีเอช 9.....	15
2.5.3 การศึกษาการตรวจวัดกลูโคสที่พีเอช 6.....	15
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	20
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์.....	20
3.1.1 สารเคมี.....	20
3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องตรวจวัด.....	20
3.2 การเตรียมสารละลาย.....	21
3.2.1 การเตรียมสารละลาย 0.01 % w/v Tetrachloroauric acid.....	21
3.2.2 การเตรียมสารละลาย 1 % wt Trisodium citrate.....	21
3.2.3 การเตรียมสารละลาย APBA ความเข้มข้น 1000 ไมโครโมลต่อลิตร.....	21
3.2.4 การเตรียมสารละลาย APBA ความเข้มข้น 30 ไมโครโมลต่อลิตร.....	21
3.2.5 การเตรียมสารละลาย Sodium hydroxide ความเข้มข้น.....	22
1 โมลต่อลิตร	
3.2.6 การเตรียมสารละลาย Sodium hydroxide ความเข้มข้น.....	22
100 มิลลิโมลต่อลิตร	
3.2.7 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Glucose 500 มิลลิโมลต่อลิตร.....	22
3.2.8 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Glucose.....	22
3.2.9 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Glucose 100 มิลลิโมลต่อลิตร.....	23
3.2.10 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Glucose ที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	23
3.2.11 การเตรียมสารละลายตัวอย่างเพื่อศึกษาค่าร้อยละของ.....	23
การวิเคราะห์คืนกลับ	
3.2.11.1 ตัวอย่างเครื่องต้มเกลือแร่.....	23
3.2.11.2 ตัวอย่างปัสสาวะ.....	24
3.2.12 การเตรียมตัวอย่างเครื่องต้มเกลือแร่.....	24
3.2.12.1 การเจือจางตัวอย่างเครื่องต้มเกลือแร่ 100 เท่า.....	24
3.2.13 การเตรียมตัวอย่างปัสสาวะ.....	24
3.2.13.1 การเก็บตัวอย่างปัสสาวะ.....	24
3.2.13.2 การเจือจางตัวอย่างปัสสาวะ 250 เท่า.....	24
3.2.13.3 การเก็บรักษาตัวอย่างปัสสาวะ.....	24
3.3 วิธีดำเนินการทดลอง.....	25
3.3.1 การสังเคราะห์อนุภาคทองคำนาโน.....	25
3.3.2 ศึกษาอิทธิพลของตัวแปรต่างๆ ที่มีผลต่อการตรวจวัด Glucose.....	25
โดยใช้อนุภาคทองคำนาโนที่ติดหมู่ฟังก์ชัน ที่ pH 9.0	
3.3.2.1 ศึกษาปริมาตรที่เหมาะสมของสารละลาย.....	25
อนุภาคทองระดับนาโนที่ pH 9.0	
ศึกษาความเข้มข้นของ APBA ที่เหมาะสมที่ pH 9.0.....	26
3.3.2.2 ศึกษาความเข้มข้นของ APBA ที่เหมาะสมที่ pH 9.0.....	26
3.3.2.3 ศึกษาลำดับการทำปฏิกิริยาที่ pH 9.0.....	26

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.3.3	ศึกษาอิทธิพลของตัวแปรต่างๆ ที่มีผลต่อการตรวจวัด Glucose.....	28
	โดยใช้อุณหภูมิของนาโนที่ติดหมูฟังกซ์ัน ที่ pH 6.0	
3.3.3.1	ศึกษาความเข้มข้นของ APBA ที่เหมาะสมที่ pH 6.0.....	28
3.3.3.2	ศึกษาลำดับการทำปฏิกิริยาที่ pH 6.0.....	29
3.3.4	การศึกษาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ.....	30
3.3.5	การศึกษาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ.....	31
3.3.6	การศึกษาค่าร้อยละ.....	31
3.3.7	การศึกษาขีดจำกัดของการตรวจวัดด้วยตาเปล่า.....	31
3.3.8	การหาปริมาณกลูโคสในตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่.....	31
3.3.9	การหาปริมาณกลูโคสในตัวอย่างปัสสาวะ.....	32
บทที่ 4	ผลการวิจัยและอภิปรายผล.....	33
4.1	ศึกษาสเปกตรัมของอนุภาคนาโนที่ติดหมูฟังกซ์ัน (APBA).....	33
4.2	ศึกษาอิทธิพลของตัวแปรต่างๆ ที่มีผลต่อการตรวจวัดกลูโคสที่ pH 9.0.....	34
4.2.1	ศึกษาปริมาตรที่เหมาะสมของสารละลายอนุภาคทองระดับนาโน.....	34
	ที่ pH 9.0	
4.2.2	ศึกษาความเข้มข้นของ APBA ที่เหมาะสม ที่ pH 9.0.....	35
4.2.3	ศึกษาลำดับการเกิดปฏิกิริยาที่ pH 9.0.....	36
4.2.3.1	สารละลายอนุภาคทองระดับนาโนที่ปรับ pH เป็น 9.0.....	36
	และติดฟังกซ์ัน APBA แล้วนำไปทำปฏิกิริยากับสารละลายกลูโคส	
4.2.3.2	สารละลายอนุภาคทองระดับนาโนที่ติดฟังกซ์ัน APBA.....	37
	ปรับ pH เป็น 9.0 แล้วนำไปทำปฏิกิริยากับสารละลายกลูโคส	
4.2.3.3	สารละลายอนุภาคทองระดับนาโนที่นำไปทำปฏิกิริยากับ.....	38
	APBA pH 9.0 และ สารละลายกลูโคส	
4.2.4	ศึกษาความเข้มข้นของ APBA ที่เหมาะสม ที่ pH 6.0.....	39
4.2.5	ศึกษาลำดับการทำปฏิกิริยาที่ pH 6.0.....	40
4.2.5.1	สารละลายอนุภาคทองระดับนาโนที่ติดฟังกซ์ัน APBA.....	40
	แล้วนำไปทำปฏิกิริยากับสารละลายกลูโคส	
4.2.5.2	สารละลายอนุภาคทองระดับนาโนที่นำไปทำปฏิกิริยากับ.....	41
	APBA pH 6.0 และ สารละลายกลูโคส	
4.3	ศึกษาคุณลักษณะของวิธีวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสด้วยเครื่อง UV-Visible.....	43
	Spectrophotometer	
4.3.1	ศึกษาความเป็นเส้นตรง (Linearity).....	43
4.3.2	ศึกษาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ.....	44
4.3.3	ศึกษาความเที่ยง.....	45

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.3.4 ศึกษาขีดจำกัดของการตรวจวัดด้วยตาเปล่า.....	46
4.4 ทดสอบความถูกต้องของการประเมินระดับความเข้มข้นของกลูโคส.....	46
ด้วยตาเปล่าเทียบกับระดับความเข้มข้นที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer	
บทที่ 5 สรุปผลและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	48
5.1 สรุปผลและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	48
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	48
เอกสารอ้างอิง.....	49
ภาคผนวก.....	51



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ตารางสรุปรงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	19
3.1 ตารางแสดงการเตรียมสารละลายมาตรฐาน Glucose ที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	22
3.2 ตารางแสดงการเตรียมสารละลายมาตรฐาน Glucose ที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	23
3.3 ตารางแสดงการเตรียมสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนที่ปริมาตรต่างๆ.....	25
3.4 ตารางแสดงการเตรียมสารละลาย APBA ที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	26
3.5 ตารางแสดงการเตรียมสารละลาย APBA ที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	28
4.1 แสดงค่าร้อยละของการคืนกลับได้ (%Recovery) ในการหาปริมาณ กลูโคสในตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่ด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer	44
4.2 แสดงค่าร้อยละของการคืนกลับได้ (%Recovery) ในการหาปริมาณ กลูโคสในตัวอย่างปัสสาวะด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer	45
4.3 สรุปคุณลักษณะเด่นของวิธีวิเคราะห์ในการวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer	45
4.4 แสดงผลการทดลองในการหาปริมาณกลูโคสในตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่ และปัสสาวะด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer และด้วยตาเปล่า	47
ค.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงในการศึกษาความเป็นเส้นตรง.....	58
ค.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงในการศึกษาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ ของตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่ชนิดที่1 และ spiked sample กลูโคสความเข้มข้น 50 mM	58
ค.3 แสดงค่าการดูดกลืนแสงในการศึกษาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ ของตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่ชนิดที่2 และ spiked sample กลูโคสความเข้มข้น 50 mM	58
ค.4 แสดงค่าการดูดกลืนแสงในการศึกษาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ ของตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่ชนิดที่3 และ spiked sample กลูโคสความเข้มข้น 50 mM	59
ค.5 แสดงค่าการดูดกลืนแสงในการศึกษาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ ของตัวอย่างปัสสาวะที่1 และ spiked sample กลูโคสความเข้มข้น 150 mM	59
ค.6 แสดงค่าการดูดกลืนแสงในการศึกษาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ ของตัวอย่างปัสสาวะที่2 และ spiked sample กลูโคสความเข้มข้น 150 mM	59
ค.7 แสดงค่าการดูดกลืนแสงในการศึกษาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ ของตัวอย่างปัสสาวะที่3 และ spiked sample กลูโคสความเข้มข้น 150 mM	59
ค.8 แสดงค่าการดูดกลืนแสงในการศึกษาความเที่ยง (Precision).....	60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 โครงสร้างของน้ำตาลกลูโคส (Glucose).....	4
2.2 การประมาณจำนวนอะตอมและพื้นที่ผิวของอนุภาคนาโนทองคำที่มีขนาดแตกต่างกัน.....	9
2.3 การเกิดเซอร์เฟส พลาสมอน เรโซแนนซ์ โดยแสดงการสั่นของกลุ่มอิเล็กตรอน.....	10
ในแถบเนียร์วน่า เมื่อมีแสงจากภายนอกส่องผ่าน	
2.4 ความสัมพันธ์ระหว่าง ความยาวคลื่นแสงกับ extinction efficiency ของอนุภาคนาโน.....	12
ทองคำ เงิน และทองแดง ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 นาโนเมตร	
2.5 การเปล่งแสงของอนุภาคนาโนทองคำที่มีลักษณะรูปร่างต่างๆ ตามความยาวคลื่น.....	13
ที่แตกต่างกัน	
2.6 แสดงสีของอนุภาคทองระดับนาโนที่ขนาดต่างๆ (ภาพ a ขนาดอนุภาค 5 นาโนเมตร,.....	14
ภาพ b ขนาดอนุภาค 10 นาโนเมตร, ภาพ c ขนาดอนุภาค 20 นาโนเมตร, ภาพ d	
ขนาดอนุภาค 50 นาโนเมตร และภาพ e ขนาดอนุภาค 100 นาโนเมตร)	
2.7 โครงสร้างของ 3-aminophenylboronic acid ที่ละลายน้ำ.....	14
2.8 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของ APBA กับสารละลายกลูโคส.....	15
และ อนุภาคทองระดับนาโนที่พีเอช 9	
2.9 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของ APBA กับสารละลายกลูโคส.....	16
และ อนุภาคทองระดับนาโนที่พีเอช 6	
2.10 โครงสร้างของ 3-aminophenylboronic acid (APBA).....	16
4.1 (ก) สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนและอนุภาคทองระดับ.....	33
นาโนที่ติดฟังก์ชัน APBA (30 μM)	
(ข) รูปถ่ายแสดงอนุภาคทองนาโนที่ติดหมู่ฟังก์ชันด้วย APBA (30 μM)	
4.2 (ก) สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนความเข้มข้น.....	34
2.2 นาโนโมลต่อลิตร ที่ปริมาตร 1, 2, 4, 6 และ 8 มิลลิลิตร ที่ติดฟังก์ชัน APBA	
(30 ไมโครโมลต่อลิตร)	
(ข) รูปถ่ายสารละลาย เมื่อใช้อนุภาคทองระดับนาโนที่ปริมาตรต่างๆ	
4.4 (ก) สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนที่ติดฟังก์ชัน APBA.....	35
ความเข้มข้น สดท้าย 1,5,10,20 และ 30 ไมโครโมลต่อลิตร หลังทำปฏิกิริยากับ	
สารละลายมาตรฐานกลูโคส ความเข้มข้น 500 มิลลิโมลต่อลิตร	
(ข) รูปถ่ายสารละลายทองนาโนที่ติดฟังก์ชันด้วย APBA ที่ความเข้มข้นต่างๆ	
4.5 (ก) กราฟแสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนที่ปรับ pH.....	36
เป็น 9.0 และ ติดฟังก์ชัน APBA ความเข้มข้นสดท้าย 30 ไมโครโมลต่อลิตรหลัง	
ทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้น 500 มิลลิโมลต่อลิตรและ	
(ข) รูปถ่ายสารละลายทองนาโนที่ปรับ pH เป็น 9.0 หลังทำปฏิกิริยากับสารละลาย	
มาตรฐานกลูโคสความเข้มข้น 500 มิลลิโมลต่อลิตร	

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
4.6 (ก) กราฟแสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนที่ติดฟังก์ชัน APBA ความเข้มข้นสุดท้าย 30 ไมโครโมลต่อลิตร หลังทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานกลูโคส ความเข้มข้น 0,10,50,100 และ 500 มิลลิโมลต่อลิตร (ข) รูปถ่ายสารละลายทองนาโน หลังทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานกลูโคส ความเข้มข้นต่างๆ	37
4.7 กราฟแสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนที่ทำปฏิกิริยากับ APBA pH 9.0 และ สารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้น 1,10,100 และ 500 มิลลิโมลต่อลิตร	38
4.8 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง กับความเข้มข้นของกลูโคส ที่ความเข้มข้นสุดท้ายของ APBA เท่ากับ 10, 20, 30 และ 40 ไมโครโมลต่อลิตร	39
4.9 กราฟแสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนที่ติดฟังก์ชัน APBA ความเข้มข้นสุดท้าย 10 ไมโครโมลต่อลิตรหลังทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้น 0,10,50,100 และ 500 มิลลิโมลต่อลิตร	40
4.10 กราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตร) กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร	40
4.11 (ก) กราฟแสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนที่ทำปฏิกิริยากับ APBA pH 6 และ สารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้น 0, 1, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร และ (ข) รูปถ่ายสารละลายทองนาโนหลังทำปฏิกิริยา กับสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้นต่างๆ	41
4.12 กราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตร) กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร	42
4.13 กราฟแสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนที่ทำปฏิกิริยากับ APBA pH 6 และ สารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้น 0-500 มิลลิโมลต่อลิตร	43
4.14 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆที่ตรวจวัดด้วยเครื่อง UV-Visible spectrometer	43
4.15 รูปถ่ายสารละลาย เมื่อใช้อนุภาคทองระดับนาโนทำปฏิกิริยากับ APBA pH 6 และ สารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ	46
4.16 รูปถ่ายสารละลายทองนาโนหลังทำปฏิกิริยากับสารละลายตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่ และ ปัสสาวะ เทียบสีกับสารละลายชุดมาตรฐาน	46

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
ข.1 กราฟแสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนที่ทำปฏิกิริยากับ APBA ความเข้มข้นสุดท้าย 10 ไมโครโมลต่อลิตรและสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้นต่างๆ	54
ข.2 กราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตร) ของอนุภาคทองระดับนาโนที่ APBA ความเข้มข้นสุดท้าย 10 ไมโครโมลต่อลิตรกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	54
ข.3 กราฟแสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนที่ทำปฏิกิริยากับ APBA ความเข้มข้นสุดท้าย 20 ไมโครโมลต่อลิตรและสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้นต่างๆ	55
ข.4 กราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตร) ของอนุภาคทองระดับนาโนที่ APBA ความเข้มข้นสุดท้าย 20 ไมโครโมลต่อลิตรกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	55
ข.5 กราฟแสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนที่ทำปฏิกิริยากับ APBA ความเข้มข้นสุดท้าย 30 ไมโครโมลต่อลิตรและสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้นต่างๆ	56
ข.6 กราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตร) ของอนุภาคทองระดับนาโนที่ APBA ความเข้มข้นสุดท้าย 30 ไมโครโมลต่อลิตรกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	56
ข.7 กราฟแสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนที่ทำปฏิกิริยากับ APBA ความเข้มข้นสุดท้าย 40 ไมโครโมลต่อลิตรและสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้นต่างๆ	57
ข.8 กราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตร) ของอนุภาคทองระดับนาโนที่ APBA ความเข้มข้นสุดท้าย 40 ไมโครโมลต่อลิตรกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะณใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สัญลักษณ์และคำย่อ

AuNPs	อนุภาคทองระดับนาโน (Gold nanoparticles)
APBA	3-aminophenylboronic acid
R ²	ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสีในใจ (Relative coefficient)
% w/v	หน่วยความเข้มข้นร้อยละโดยมวลต่อปริมาตร (Weight by Volume)
% wt	หน่วยความเข้มข้นร้อยละโดยมวลต่อมวล (Weight by Weight)
ml	มิลลิลิตร
μl	ไมโครลิตร
mM	มิลลิโมลาร์, มิลลิโมลต่อลิตร
μM	ไมโครโมลาร์, ไมโครโมลต่อลิตร
nm	นาโนเมตร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

โรคเบาหวาน เป็นโรคเรื้อรังที่รักษาไม่หาย ต้องได้รับการดูแลรักษาตลอดชีวิต โรคนี้เกิดจากความผิดปกติของร่างกายที่มีการผลิตฮอร์โมนอินซูลินไม่เพียงพอ ส่งผลทำให้ระดับน้ำตาลในกระแสเลือดสูงเกิน โรคเบาหวานเป็นโรคที่พบได้ในทุกเพศทุกวัยและจะพบมากขึ้นเมื่อสูงอายุ ในปัจจุบันผู้ป่วยเบาหวานมีแนวโน้มสูงขึ้นเรื่อยๆ และถ้าหากไม่ได้รับการรักษาอย่างเหมาะสม อาจนำไปสู่สภาวะแทรกซ้อนที่รุนแรงได้

โดยทั่วไปคนปกติจะมีระดับกลูโคสในเลือด 70 – 110 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร และไม่พบกลูโคสในปัสสาวะ แต่เมื่อน้ำตาลในเลือดสูงเกินระดับที่ไตจะดูดกลับไว้ได้ จะทำให้น้ำตาลถูกขับออกมากับปัสสาวะ ดังนั้นการตรวจวัดปริมาณกลูโคสในปัสสาวะจึงมีความสำคัญในแง่ของการวินิจฉัยโรคเบาหวาน

วิธีการตรวจวัดกลูโคสในปัสสาวะซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาล เป็นวิธีที่ใช้ปฏิกิริยาระหว่างกลูโคสกับเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส (glucose oxidase) ทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีและตรวจวัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer วิธีนี้ได้รับการยอมรับว่ามีความจำเพาะเจาะจงสูง อย่างไรก็ตามวิธีการใช้เอนไซม์กลูโคสออกซิเดสมีข้อเสียในระหว่างการใช้งาน เนื่องจากเอนไซม์ไม่เสถียร จึงต้องทำการทดลองในอุณหภูมิที่เหมาะสม เพื่อไม่ให้เอนไซม์เสื่อมสภาพ นอกจากนี้เอนไซม์ยังมีราคาแพง อีกทั้งเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer มีขนาดใหญ่ ทำให้ไม่สะดวกในแง่ของการพกพาไปใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรคเบาหวานนอกห้องปฏิบัติการ

ดังนั้นเพื่อเป็นการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ที่ง่าย สะดวก ค่าใช้จ่ายไม่สูงมากและมีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ ในงานวิจัยนี้จึงได้มีการศึกษาและพัฒนาวิธีวิเคราะห์กลูโคสชนิดใหม่ โดยอาศัยหลักการเกิดปฏิกิริยาระหว่างกลูโคสกับอนุภาคทองคำนาโน (AuNPs) ที่เชื่อมติดกับหมู่เอมีนของ 3-aminophenylboronic acid (APBA) ซึ่งใช้เป็นตัวติดฟังกชัน ทำให้เกิดการรวมตัวของอนุภาคทองคำนาโน ซึ่งทำให้สีของสารละลายเข้มขึ้นจากสีแดงจนกลายเป็นสีน้ำเงิน แล้วทำการตรวจวัดด้วยตาเปล่าซึ่งจะทำให้ใช้งานง่าย สะดวก ซึ่งเป็นประโยชน์ในแง่การตรวจวินิจฉัยเบื้องต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

- 1.2.1 เพื่อสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนและศึกษาสมบัติการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองนาโนที่สังเคราะห์ขึ้น
- 1.2.2 เพื่อประยุกต์ใช้อนุภาคทองระดับนาโนที่สังเคราะห์ขึ้นในการตรวจวัดหาปริมาณกลูโคส

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

งานวิจัยนี้เริ่มจากศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการตรวจวัดกลูโคส และการสังเคราะห์อนุภาคทองนาโน จากนั้นจึงทำการสังเคราะห์อนุภาคทองนาโน แล้วนำไปศึกษาการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer จากนั้นจึงศึกษาหลักการที่ใช้ตรวจวัด ซึ่งอาศัยปฏิกิริยาการรวมตัวของอนุภาคทองนาโนที่ติดหมู่ฟังก์ชันด้วย APBA ในสถานะที่มีกลูโคส ซึ่งจะใช้เครื่อง UV-Visible Spectrophotometer เป็นเครื่องมือติดตาม จากนั้นจะได้ทำการศึกษาอิทธิพลที่มีผลต่อการตรวจวัด เช่น อิทธิพลของการติดหมู่ฟังก์ชัน (APBA) อิทธิพลของความเข้มข้นของ APBA อิทธิพลของลำดับการเติมสารเคมี และอิทธิพลของ pH เป็นต้น เพื่อเลือกสภาวะที่เหมาะสม จากนั้นจะทำการทดลองเพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน และศึกษาความเป็นเส้นตรง หากสารละลายมาตรฐานที่เตรียมขึ้นให้ความเป็นเส้นตรงที่ดี สารละลายมาตรฐานชุดดังกล่าวนี้จะนำไปใช้เป็นชุดมาตรฐานเพื่อไว้ใช้เทียบสีเพื่อใช้ประเมินความเข้มข้นของกลูโคสในตัวอย่างปัสสาวะและตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่ด้วยตาเปล่าต่อไป โดยจะทดสอบความถูกต้องของการประเมินระดับความเข้มข้นของกลูโคสด้วยตาเปล่าเทียบกับระดับความเข้มข้นที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer ว่าให้ผลวิเคราะห์ใกล้เคียงกันหรือไม่

สรุปเป็นขั้นตอนการดำเนินงานได้ดังนี้

- 1.3.1 ศึกษาวิจัยที่เกี่ยวข้องการตรวจวัดกลูโคส และการสังเคราะห์อนุภาคทองนาโน
- 1.3.2 ทำการสังเคราะห์อนุภาคทองนาโน แล้วนำไปศึกษาการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer
- 1.3.3 ศึกษาปฏิกิริยาที่ใช้ตรวจวัด ซึ่งอาศัยปฏิกิริยาการรวมตัวของอนุภาคทองนาโนที่ติดหมู่ฟังก์ชันด้วย APBA ในสถานะที่มีกลูโคส โดยใช้เครื่อง UV-Visible Spectrophotometer เป็นเครื่องติดตาม
- 1.3.4 ศึกษาอิทธิพลที่มีผลต่อการตรวจวัด เช่น อิทธิพลของการติดหมู่ฟังก์ชัน (APBA) อิทธิพลของความเข้มข้นของ APBA อิทธิพลของลำดับการเติมสารเคมี และอิทธิพลของ pH เป็นต้น
- 1.3.4 สร้างกราฟมาตรฐาน และศึกษาความเป็นเส้นตรง รวมถึงคุณลักษณะอื่นๆ
- 1.3.5 ประยุกต์ใช้วิเคราะห์ปริมาณกลูโคสในตัวอย่างปัสสาวะและตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่
- 1.3.6 ทดสอบความถูกต้องของการประเมินระดับความเข้มข้นของกลูโคสด้วยตาเปล่าเทียบกับระดับความเข้มข้นที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 สามารถใช้วิธี Turkevich ในการสังเคราะห์อนุภาคทองในระดับนาโนได้

1.4.2 สามารถประยุกต์ใช้อนุภาคทองระดับนาโนในการหาปริมาณกลูโคสในปัสสาวะด้วยตาเปล่าและในตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่ได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

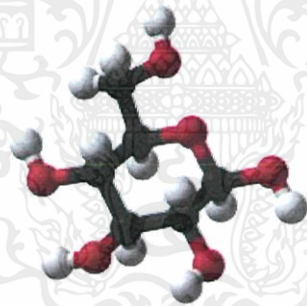
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้อมูลเกี่ยวกับน้ำตาลกลูโคส [1-4]

2.1.1 น้ำตาลกลูโคส (Glucose)

น้ำตาลกลูโคส เป็นคาร์โบไฮเดรตประเภทน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharide) ที่สำคัญที่สุดและพบมากที่สุดในธรรมชาติ จัดเป็นน้ำตาลอัลโดส ได้มาจากการสังเคราะห์แสงของพืช ผัก ผลไม้ น้ำตาลกลูโคสที่พบอยู่ในรูป D-glucose ซึ่งเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) กลูโคสมีชื่อเรียกทางการค้าว่า เดกซ์โทรส (dextrose) ในทางการแพทย์เรียกน้ำตาลในเลือด (blood sugar) กลูโคสเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญเพราะร่างกายสามารถนำเอาไปใช้ได้ทันที เหมาะสำหรับผู้ป่วยที่ไม่สามารถทานอาหารได้จึงให้กลูโคสทางเลือด ในเลือดจะมีกลูโคสประมาณ 8 % และจะพบกลูโคสในปัสสาวะน้อยมาก (<2%) ถ้าพบกลูโคสในปัสสาวะมากบ่งบอกว่าบุคคลนั้นอาจเป็นโรคเบาหวานได้

2.1.2 โครงสร้างและสมบัติทางกายภาพของน้ำตาลกลูโคส



รูปที่ 2.1 โครงสร้างของน้ำตาลกลูโคส (Glucose) [1]

ชื่อทางเคมี (IUPAC)	:	6- (hydroxymethyl) oxane-2,3,4,5-tetrol หรือ (2R,3R,4S,5R,6R)-6- (hydroxymethyl) tetrahydro-2H-pyran-2,3,4,5-tetraol
ชื่ออื่น	:	Dextrose
สูตรโครงสร้าง	:	$C_6H_{12}O_6$
มวลโมเลกุล	:	180.156 g / mol
ความหนาแน่น	:	1.54 g / mL
จุดหลอมเหลว	:	α -D-glucose : 146 °C β -D-glucose : 150 °C

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับบริการเชิงานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3 ประโยชน์ของน้ำตาลกลูโคส

1. เป็นแหล่งอาหารที่จำเป็นของเซลล์ เนื้อเยื่อ และอวัยวะภายในร่างกาย ทำให้ ไกลโคเจน (glycogen) ในตับเพิ่มขึ้น ช่วยทำให้การเผาผลาญ (Metabolism) ของเนื้อเยื่อดีขึ้น และในขณะที่น้ำตาลในเลือดลดลง กลูโคสยังเป็นสารที่ช่วยกระตุ้นการทำงานของหัวใจได้เป็นอย่างดี

2. ทำให้ร่างกายมีความต้านทานต่อโรคติดต่อได้ ดังนั้นในการรักษาโรค กลูโคสจึงถูกนำไปใช้เป็นการรักษาโรคอย่างกว้างขวาง

3. เป็นวัตถุดิบในการให้พลังงานและสารประกอบที่สำคัญอื่นๆ เช่น สมอต้องการกลูโคสวันละ 110-130 กรัม ไตและเม็ดเลือดแดงต้องการกลูโคสเป็นอาหาร ส่วนหัวใจจะทำงานได้ก็ต้องอาศัยกลูโคสมาทดแทนพลังงานที่สูญเสียไป และจากผลการทดลองหัวใจของสัตว์นอกร่างกาย พบว่ากลูโคสมีฤทธิ์กระตุ้นหัวใจของสัตว์ทดลอง ส่วนอวัยวะภายในร่างกายอื่นๆ ถ้าขาดกลูโคสก็จะสามารถใช้กรดไขมันมาเป็นแหล่งให้พลังงานได้

4. น้ำตาลเป็นสิ่งจำเป็นต่อชีวิตมาก เนื่องจากการทำงานของอวัยวะภายในร่างกายและเนื้อเยื่อต่างๆ ของร่างกาย ก็ล้วนแล้วแต่ต้องใช้พลังงานจากน้ำตาล นอกจากนี้การหายใจ การขับปัสสาวะ การไหลเวียน การย่อยอาหารก็ล้วนแล้วแต่ต้องการความร้อนจากน้ำตาลแทบทั้งสิ้น หรือแม้แต่ตั้งแต่การคลอดจากครรภ์มารดา ในการดำรงชีวิตเราจะขาดน้ำตาลไม่ได้ แม้อาหารที่จำเป็นของทารกก็ยังเป็นน้ำนมที่มีน้ำตาลผสมอยู่ สรุปก็คือ พลังงานในการเคลื่อนไหวของมนุษย์ 70% มาจากน้ำตาล ถ้าขาดน้ำตาลมนุษย์ก็จะไม่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้

2.1.4 โทษของน้ำตาลกลูโคส

1. การรับประทานน้ำตาลมากเกินไปจะทำให้ต้องใช้อินซูลินมาก ถ้ารับประทานเป็นระยะเวลานานก็ทำให้เกิดโรคเบาหวานได้ และในคนที่บริโภคน้ำตาลมากเกินไปในช่วง 40 ปีแรกของชีวิต จะมีโอกาสเป็นโรคเบาหวานมากกว่าคนอื่นๆ เพราะน้ำตาลจะไปทำให้ตับอ่อนที่ทำหน้าที่ผลิตอินซูลินเสื่อมสมรรถภาพ เมื่อรับประทานเข้าไปมากๆ จึงทำให้น้ำตาลในเลือดสูงขึ้น นอกจากน้ำตาลจะเป็นสาเหตุของโรคเบาหวานแล้ว น้ำตาลยังเป็นสาเหตุสำคัญของโรคหัวใจ และความดันโลหิตสูงอีกด้วย

2. การรับประทานน้ำตาลมากๆ จะทำให้การขับออกของโครเมียมทางไตมีมากขึ้น ซึ่งโครเมียมนั้นเป็นแร่ธาตุที่สำคัญในการเพิ่มการทำงานของอินซูลินในการลดระดับน้ำตาลในเลือด ดังนั้น การรับประทานน้ำตาลในปริมาณมาก จะทำให้เกิดภาวะดื้ออินซูลินได้

3. สำหรับคนที่มีระดับน้ำตาลในเลือดสูง ไม่จำเป็นต้องเป็นผู้ป่วยโรคเบาหวานเท่านั้น แต่ยังมีหมายถึงคนที่ชอบรับประทานขนมหวาน น้ำอัดลม น้ำผลไม้ ฯลฯ เพราะจะทำให้อวัยวะภายใน

ร่างกายเสื่อมเร็วกว่าปกติ ทำให้แก่เร็ว อ้วน กระจกพรุน เนื้องอก และมะเร็ง ที่สำคัญน้ำตาลยังทำให้อาการของโรคที่เป็นอยู่จะทวีความรุนแรงเพิ่มมากขึ้น ไม่ว่าจะเป็นป่วยเป็นโรคอะไรก็ตาม เช่น หากดื่มจนเป็นภูมิแพ้ อาการของโรคภูมิแพ้จะมีความรุนแรงเป็น 2 เท่า หรือทำให้อาการของโรคติดเชื้อที่เป็นอยู่มีความรุนแรงมากขึ้น เนื่องจากเชื้อโรคทุกชนิดจะใช้น้ำตาลเป็นอาหาร และน้ำตาลยังเป็นแหล่งอาหารของเซลล์มะเร็ง เป็นอาหารของยีสต์ในลำไส้ ทำให้ยีสต์เพิ่มจำนวนมากขึ้นและทำให้เกิดภาวะไส้รั่ว

4. น้ำตาลจะถูกเก็บไว้ที่ตับในรูปของไกลโคเจน เมื่อมีมากจนเกินไป ตับจะส่งไปยังกระแสเลือดแล้วเปลี่ยนเป็นกรดไขมัน โดยจะสะสมไว้ตามส่วนต่างๆ ของร่างกายที่มีการเคลื่อนไหวน้อย เช่น สะโพก ก้น หน้าท้อง ขาอ่อน เป็นต้น และการรับประทานน้ำตาลอย่างต่อเนื่อง กรดไขมันจะสะสมไว้ที่อวัยวะภายในอื่นๆ เช่น หัวใจ ตับ และไต ซึ่งอวัยวะเหล่านี้จะค่อยๆ ถูกหล่อหุ้มไปด้วยไขมันและน้ำเมื่อก ร่างกายก็เริ่มมีความผิดปกติ ความดันเลือดก็จะสูงขึ้น สรุปลก็คือถ้าเราไม่ได้ใช้พลังงานมากเพียงพอ น้ำตาลที่ได้ก็จะถูกเปลี่ยนไปเป็นไขมันสะสมไว้ในร่างกาย

5. จากข้อมูลขององค์การอนามัยโลก แนะนำให้รับประทานน้ำตาลเพียงวันละ 6 ช้อนชาเท่านั้น เพื่อหลีกเลี่ยงโรคเบาหวาน (โรคเบาหวานถูกยกระดับให้เป็นโรคอันตรายเทียบเท่ากับโรคเอดส์) แต่จากการสำรวจของสำนักงานกองทุนสนับสนุนการส่งเสริมสุขภาพ (สสส.) กลับพบว่าคนไทยบริโภคน้ำตาลมากเกินกว่าปริมาณที่แนะนำ 3 เท่าตัว หรือประมาณ 20 ช้อนชา โดยเฉพาะเด็กที่ชอบดื่มเครื่องดื่มเป็นประจำ จนทำให้สถิติอ้วนลงพุงของเด็กไทยพุ่งสูงขึ้นที่สุดในโลก และในรอบห้าปีที่ผ่านมา พบว่าเด็กไทยที่มีอายุต่ำกว่า 15 ปี ป่วยเป็นโรคเบาหวานเพิ่มขึ้นถึง 6 เท่า และยังพบว่าคนไทยจำนวนมากถึง 17 ล้านคน ที่ดื่มเครื่องดื่มทุกวัน โดยน้ำอัดลมน้ำดำ น้ำอัดลมสี และน้ำอัดลมน้ำใส (เพียงกระป๋องเดียว) จะมีน้ำตาลเป็นส่วนผสมอยู่มากถึง 34-46 กรัม หรือ 8.5-11.5 ช้อนชา

2.1.5 โรคเบาหวาน (Diabete)

โรคเบาหวาน เป็นกลุ่มโรคเกี่ยวกับการเผาผลาญอาหารซึ่งมีระดับน้ำตาลในเลือดสูงเป็นเวลานาน น้ำตาลในเลือดสูงก่อให้เกิดอาการปัสสาวะบ่อย กระหายน้ำและความหิวเพิ่มขึ้น หากไม่ได้รับการรักษา เบาหวานอาจก่อให้เกิดอาการแทรกซ้อนจำนวนมาก ภาวะแทรกซ้อนเฉียบพลัน ได้แก่ ภาวะเลือดเป็นกรดจากคีโตนจากเบาหวาน และโคม่าเนื่องจากออสโมลาร์สูงที่ไม่ได้เกิดจากคีโตน ภาวะแทรกซ้อนระยะยาวที่ร้ายแรงรวมถึงโรคหัวใจ, โรคหลอดเลือดสมอง, ไตวาย, แผลที่เท้าและความเสียหายต่อตา

เบาหวานเกิดจากตับอ่อนผลิตอินซูลินไม่เพียงพอ หรือเซลล์ร่างกายไม่ตอบสนองอย่างเหมาะสมต่ออินซูลินที่ผลิต อย่างไรก็ตาม เบาหวานมี 3 ชนิดหลัก ได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เบาหวานชนิดที่ 1 เกิดจากร่างกายผลิตอินซูลินได้ไม่เพียงพอ เคยเรียกว่า "เบาหวานชนิดพึ่งอินซูลิน" ซึ่งยังไม่ทราบสาเหตุ

- เบาหวานชนิดที่ 2 เริ่มขึ้นจากการดื้อต่ออินซูลิน คือ ภาวะที่เซลล์ไม่สามารถตอบสนองต่ออินซูลินอย่างเหมาะสม เมื่อโรคดำเนินไป อาจมีการขาดอินซูลินด้วย แบบนี้เรียก เบาหวานชนิดไม่พึ่งอินซูลิน สาเหตุหลักเกิดจากน้ำหนักกายเกินและออกกำลังกายไม่เพียงพอ

- เบาหวานชนิดที่ 3 คือ เป็นเบาหวานระหว่างตั้งครรภ์ และเกิดเมื่อหญิงมีครรภ์ซึ่งไม่เคยมีประวัติเบาหวานมาก่อน มีระดับน้ำตาลในเลือดสูง

การป้องกันและรักษารวมถึงการรับประทานอาหารที่ดีต่อสุขภาพ, การออกกำลังกาย, การงดสูบบุหรี่ และการรักษาน้ำหนักให้ปกติ การควบคุมความดันโลหิตและการดูแลเท้าอย่างเหมาะสมก็สำคัญต่อผู้ป่วยเช่นกัน เบาหวานชนิดที่ 1 ต้องรักษาด้วยการฉีดอินซูลิน เบาหวานชนิดที่ 2 อาจรักษาด้วยยาพร้อมกับอินซูลินด้วยหรือไม่ก็ได้ อินซูลินและยาเกินบางชนิดสามารถทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดต่ำลงได้ การผ่าตัดลดน้ำหนักในผู้ป่วยโรคอ้วนเป็นมาตรการที่มีประสิทธิภาพในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 เบาหวานระหว่างมีครรภ์โดยปกติหายได้เองหลังทารกคลอด

อินซูลิน

อินซูลิน เป็นฮอร์โมนที่สร้างขึ้นโดยกลุ่มเซลล์ภายในตับอ่อน มีหน้าที่ในการนำน้ำตาลในเลือดไปสู่เนื้อเยื่อต่างๆทั่วร่างกายเพื่อใช้ในการสร้างพลังงานและสร้างเซลล์ต่างๆ โดยปกติแล้วเมื่อน้ำตาลเข้าสู่กระแสเลือดตับอ่อนก็จะถูกกระตุ้นให้หลั่ง อินซูลิน แล้วอินซูลินก็จะเข้าจับน้ำตาลเพื่อนำไปเลี้ยงส่วนต่างๆของร่างกาย แต่ในผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวาน ซึ่งร่างกายมี อินซูลิน ไม่เพียงพอก็จะทำให้มีน้ำตาลในเลือดสูงขึ้น

การวินิจฉัย

หากสงสัยว่าเป็น เบาหวาน ควรไปตรวจเลือดที่โรงพยาบาลโดย อดอาหารและเครื่องดื่มทุกชนิด ตั้งแต่เที่ยงคืน แล้วไปเจาะเลือดในตอนเช้า เพื่อดูระดับน้ำตาลในเลือดหลังอดอาหาร 6 ชั่วโมง (FPG) ซึ่งคนปกติจะมีค่าต่ำกว่า 110 มิลลิกรัม ต่อเลือด 100 มิลลิลิตร หากพบมีค่า เท่ากับหรือมากกว่า 126 มิลลิกรัม ในการตรวจอย่างน้อย 2 ครั้ง ก็วินิจฉัยได้ว่าเป็นเบาหวาน และยังมีค่าสูงเท่าใดก็แสดงว่ามีความรุนแรงของการเป็นเบาหวาน เพิ่มมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 อนุภาคทองระดับนาโน [5]

อนุภาคทองระดับนาโนได้รับความสนใจจาก นักวิจัย อย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีคุณสมบัติ เซอร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนท์ surface Plasmon resonance, SPR) ซึ่ง SPR ก็คือปรากฏการณ์เชิงแสง ซึ่งเกิดจากอันตรกิริยาของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าและอิเล็กตรอนที่อยู่ในโลหะระดับนาโน กล่าวคือเมื่อมีคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าจากภายนอกมาตกกระทบโลหะ กลุ่มอิเล็กตรอนที่ถูกจำกัดอยู่ในอนุภาคระดับนาโนจะเกิดการสั่นรวม (collective oscillation) และเมื่ออิเล็กตรอนได้รับคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าจากภายนอกที่มีความยาวคลื่นเดียวกันกับความยาวคลื่นที่อิเล็กตรอนสั่นในอนุภาคนาโน จะทำให้เกิดการกำทอน (Resonance) ขึ้น ซึ่งอันตรกิริยาที่แสงกระทำต่อโลหะจะเกิดได้สองแบบ คือ แสงจะตกกระทบและสะท้อนออกไปด้วยความยาวคลื่นเท่าเดิมทุกทิศทุกทาง เรียกว่าการกระเจิง (scattering) และในขณะเดียวกัน บางโฟตอนก็จะถูกดูดกลืนและถูกเปลี่ยนไปเป็นพลังงานการสั่น ซึ่งเรียกว่า การดูดกลืนแสง (absorption) ซึ่งโดยทั่วไปแล้วโครงสร้างระดับนาโนของทองจะเกิดทั้งกระบวนการกระเจิงแสงและการดูดกลืนแสง ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้ จะขึ้นอยู่กับขนาดและรูปร่างของอนุภาคนาโน ยกตัวอย่างเช่น อนุภาคแบบทรงกลมของทอง เส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 50 นาโนเมตร จะดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่นประมาณ 520 นาโนเมตร ซึ่งจะให้สีแดงทับทิม

2.2.1 การสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนแบบทรงกลม [5]

อนุภาครระดับนาโนของทองที่สังเคราะห์ในรูปแบบสารละลาย จะมีโครงสร้างเป็นแบบทรงกลม ซึ่งจะมีพื้นที่ผิวน้อยที่สุด เมื่อเทียบกับรูปร่างแบบอื่น ๆ (เมื่อมีปริมาตรเท่ากัน) แต่อย่างไรก็ตามอนุภาคแบบทรงกลม ไม่ได้มีรูปร่างเป็นแบบทรงกลมโดยแท้จริง อนุภาคที่เกิดขึ้นเกิดจากการรวมตัวกันของอะตอมหลายอะตอม ซึ่งจะทำให้มีรูปร่างแบบหลายเหลี่ยม จึงควรจะเรียกอนุภาคแบบนี้ว่า quasi - spheres มากกว่าแบบทรงกลม โดยวิธีการที่นิยมใช้ในการเตรียมอนุภาคนาโนแบบนี้ได้แก่วิธีการเตรียมแบบเตอร์คีวิช (Turkevich method) โดยอาศัยปฏิกิริยารีดักชันของ ไฮโดรเจนเตตระคลอโรออร์เตต (HAuCl_4) ด้วยซิเตรต ซึ่งในวิธีการนี้ซิเตรตจะทำหน้าที่สองแบบ คือเป็นตัวรีดิวซ์ และเป็นตัวเคลือบอนุภาคทองไว้ อนุภาคที่ได้จะมีขนาดประมาณ 15 นาโนเมตร และมีขนาดใกล้เคียงกันโดยปฏิกิริยาเกิดดังนี้



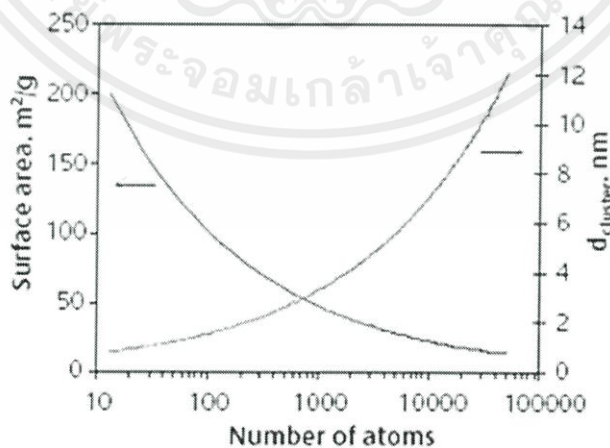
ซึ่งวิธีการสังเคราะห์แบบเตอร์คีวิช จะมีข้อจำกัดในเรื่องของขนาด กล่าวคือจะสามารถสังเคราะห์อนุภาคได้ในช่วง 10-20 นาโนเมตร ถ้าต้องการอนุภาคที่มีขนาดใหญ่ขึ้นจะต้องเพิ่มปริมาณของซิเตรต ซึ่งจะทำให้อนุภาคเกิดการรวมตัวกัน ซึ่งจะทำให้ได้อนุภาคที่มีรูปร่างเปลี่ยนไป ในเวลาต่อมา นักวิจัยได้ปรับปรุงวิธีการสังเคราะห์แบบเตอร์คีวิช เพื่อให้สามารถสังเคราะห์อนุภาครระดับนาโนที่มีขนาดระหว่าง 15 ถึง 150 นาโนเมตร โดยการปรับอัตราส่วนของซิเตรตกับทอง

2.2.2 สมบัติของทองคำแบบก้อน [6]

ทองคำแบบก้อนจะมีจุดหลอมเหลวที่ 1064 องศาเซลเซียส และจุดเดือดที่ 2970 องศาเซลเซียส ทองคำเป็นโลหะไม่ทำปฏิกิริยากับออกซิเจน ดังนั้น เมื่อสัมผัสอากาศ สีของทองจะไม่หมองและไม่เกิดสนิม ทองคำเป็นโลหะที่มีความอ่อนเหนียวมากที่สุด (ductility) และสามารถตีเป็นแผ่นบางได้ (malleability) คือจะยืดขยาย (extend) เมื่อถูกตีหรือรีดในทุกทิศทาง โดยไม่เกิดการปริแตกได้สูงสุด ทองคำบริสุทธิ์หนัก 1 อออนซ์สามารถตีเป็นเส้นลวดยาวได้ถึง 80 กิโลเมตร ถ้าตีเป็นแผ่นก็จะได้บางเกินกว่า 1/300,000 นิ้ว ส่วนพื้นที่จะได้ถึง 9 ตารางเมตร ทองคำบริสุทธิ์จะไม่ทำปฏิกิริยาทางเคมี (chemical inactive) จึงทนต่อการผุกร่อนและไม่เกิดสนิมกับอากาศ (oxidize) แต่สามารถทำปฏิกิริยากับคลอรีน ฟลูออรีน น้ำประสานทอง ทองคำเป็นโลหะชนิดหนึ่งที่สามารถนำไฟฟ้าได้ดี สะท้อนความร้อนได้ดี จึงมีการนำทองคำไปฉาบไว้ที่หน้ากากหมวกของนักบินอวกาศ เพื่อป้องกันรังสีอินฟราเรด ทองคำแบบก้อนจะมีจุดหลอมเหลวที่ 1064 องศาเซลเซียส และจุดเดือดที่ 2970 องศาเซลเซียส

2.2.3 พื้นที่ผิวต่อปริมาตรและความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยาเคมี [6]

ทองคำที่มีขนาดในระดับนาโนเมตร จะมีอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ผิวต่อปริมาตร (surface to volume) สูงมาก เมื่อเปรียบเทียบกับทองคำชนิดเดียวกันที่มีขนาดใหญ่กว่า เช่น อนุภาคทองคำ ที่มีขนาด 2 นาโนเมตร จะมีพื้นที่ผิวสูงถึง 150 ตารางเมตรต่อกรัม เมื่ออนุภาคเล็กลงจะทำให้พื้นที่ผิวสูงขึ้น ดังนั้นจะส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาเคมีบนพื้นผิวหน้าอนุภาคได้ง่าย และยังช่วยให้เกิดปรากฏการณ์ต่างๆ อันเนื่องมาจากอิทธิพลของเคมีผิวหน้า ในรูปที่ 2.2 จะเห็นว่าเมื่อขนาดของอนุภาคทองคำเล็กลงจะทำให้จำนวนอะตอมของทองคำลดลงแบบเอกโปเนนเชียล (exponential decay) และพื้นที่ผิวเพิ่มขึ้นแบบเอกโปเนนเชียล (exponential growth)

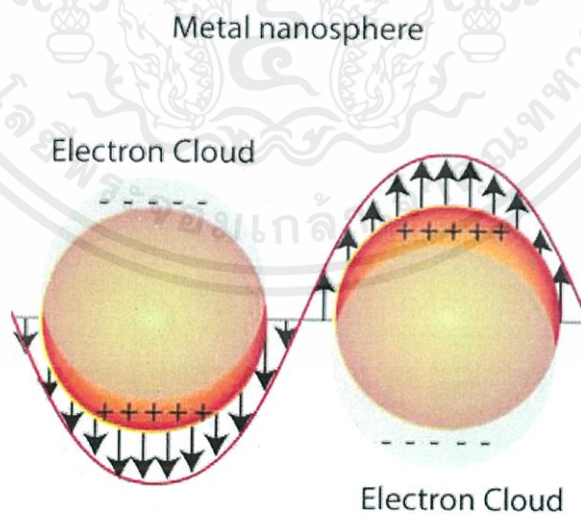


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
รูปที่ 2.2 การประมาณจำนวนอะตอมและพื้นที่ผิวของอนุภาคนาโนทองคำที่มีขนาดแตกต่างกัน [6]

การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีของอนุภาคทอง เมื่อวัสดุมีปริมาณอะตอมผิวหน้ามากขึ้น อาจมีสาเหตุมาจากอิทธิพลอิเล็กทรอนิกส์ และอิทธิพลสเตอริก (electronic and steric effects) โดยที่อิทธิพลอิเล็กทรอนิกส์ จะเกี่ยวข้องกับความหนาแน่นของอิเล็กตรอนที่บริเวณศูนย์กลางปฏิกิริยา (reaction center) เช่น การเกิดประจุบวกหรือประจุลบขึ้น ส่วนอิทธิพลสเตอริก จะเกี่ยวข้องกับลักษณะ รูปร่าง และความเกาะเกาะภายในโครงสร้าง

2.3 เซอร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์ (surface plasmon resonance) [5-6]

เซอร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์ หรือ สมบัติทางแสงของอนุภาคนาโนของโลหะ เช่น ทองคำ สามารถเกิดขึ้นเนื่องจากอันตรกิริยาของแสงซึ่งเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้ากับอิเล็กตรอนอิสระที่ผิวของอนุภาคนาโนของโลหะ เมื่อแสงตกกระทบที่โครงสร้างระดับนาโนของทองอิเล็กตรอนจะถูกกระตุ้นไปยังแถบเหนี่ยวนำ และจะเกิดการสั่นพ้องกับแสงที่ตกกระทบ ซึ่งจะทำให้เกิดพลาสมอน โพลาริตรอน (รูปที่ 2.3) ซึ่งจะสามารถถ่ายทอระหว่างรอยต่อของโลหะ และได-อิเล็กทริก ซึ่งปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นนี้จะเกิดอยู่บริเวณเปลือกชั้นนอกของโลหะนาโน เพราะแสงจากภายนอกไม่สามารถส่องทะลุผ่านเข้าไปภายในวัสดุได้ จึงเรียกปรากฏการณ์นี้ว่า localized surface plasmon resonance, LSPR แสงที่ตกกระทบที่พื้นผิวของวัสดุ จะทำอันตรกิริยากับวัสดุสองแบบคือ การดูดกลืน และการกระเจิง โดยแสงที่ถูกดูดกลืน จะทำให้เกิดการสั่นภายในผลึกของวัสดุนาโน จะก่อให้เกิดความร้อนขึ้น ซึ่งสามารถนำประยุกต์ใช้ในการฆ่าเซลล์มะเร็งด้วยความร้อนได้ ขณะที่แสงที่เกิดการกระเจิง ซึ่งมีความยาวคลื่น เท่ากับ แสงที่ตกกระทบ จะสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในกระบวนการสร้างภาพถ่ายได้



รูปที่ 2.3 การเกิดเซอร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์ โดยแสดงการสั่นของกลุ่มอิเล็กตรอนใน

แถบเหนี่ยวนำ เมื่อมีแสงจากภายนอกส่องผ่าน [5]

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.3 แสดงกระบวนการสั่นของพลาสมอน แสดงให้เห็นการกระจัดของกลุ่มประจุอิเล็กตรอน (conduction electron charge cloud) สัมพันธ์กับนิวเคลียสเมื่อได้รับแสงหรือคลื่น

แม่เหล็กไฟฟ้า ดังนั้นกลุ่มอิเล็กตรอนอิสระจะถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการสั่นพ้อง โดยความถี่ของการสั่นขึ้นอยู่กับ ความหนาแน่นของอิเล็กตรอน (electron density) มวลสัมพัทธ์อิเล็กตรอน (effective electron mass) ขนาด รูปร่างของการกระจายของประจุ (charge distribution) สำหรับการสั่นของอิเล็กตรอนของอนุภาคขนาดเล็ก เรียกว่า ไดโพล พลาสมอน เรโซแนนซ์ (dipole plasmon resonance) ซึ่งจะแตกต่างจาก พลาสมอน เอกซ์ไซเตชัน (Plasmon excitation) ของโลหะแบบก้อน (bulk metal)

สมบัติทางแสงของอนุภาคนาโนของโลหะสามารถอธิบายได้ด้วยหลักการประมาณทางไฟฟ้าสถิต (electrostatics approximation) แสดงดังสมการ 2.1 - 2.6

$$P = 4\pi\epsilon_0\alpha^3 \frac{\epsilon - \epsilon_0}{\epsilon + 2\epsilon_0} E_0 \quad (2.1)$$

$$\alpha = 4\pi a^3 \frac{\epsilon - \epsilon_0}{\epsilon + 2\epsilon_0} \quad (2.2)$$

โดยที่	P	คือ	ไดโพลโมเมนต์เหนี่ยวนำ (induced dipole moment)
	α	คือ	การเหนี่ยวนำให้เกิดขั้วได้ (polarizability)
	a	คือ	รัศมีของอนุภาค
	ϵ	คือ	ไดอิเล็กทริกฟังก์ชันของโลหะ
	ϵ_0	คือ	ไดอิเล็กทริกฟังก์ชันของตัวกลาง
	E_0	คือ	สนามแม่เหล็กไฟฟ้าจากภายนอก

การเกิดอันตรกิริยาของแสงกับอนุภาคนาโนทรงกลมของโลหะจะทำให้แสงที่ตกกระทบเกิดการสูญเสียพลัง (extinction) ในแต่ละความถี่ไม่เท่ากัน ซึ่งขึ้นกับ ขนาด รูปร่าง ชนิดของโลหะ และชนิดของตัวกลาง ซึ่งจัดว่าเป็นสมบัติเฉพาะตัวที่ใช้จำแนกชนิดของอนุภาคนาโนของโลหะ การสูญเสียพลังที่เกิดขึ้นเนื่องจากแสงที่ตกกระทบกับอนุภาคทรงกลมของโลหะมีการกระเจิง (scattering) และดูดกลืน (absorption) โดยอนุภาคตามหลักการประมาณทางไฟฟ้าสถิต สามารถเขียน extinction efficiency ดังสมการ 2.3 - 2.5

$$Q_{ext} = Q_{abs} + Q_{sca} \quad (2.3)$$

$$Q_{ext} = 4x \operatorname{Im} \left(\frac{\epsilon - \epsilon_0}{\epsilon + 2\epsilon_0} \right) \quad (2.4)$$

$$Q_{sca} = \frac{8}{3} x^4 \left| \frac{\epsilon - \epsilon_0}{\epsilon + 2\epsilon_0} \right|^2 \quad (2.5)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าวิจัยเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 โดยที่ $x = \frac{2\pi a (\epsilon_0)^{1/2}}{\lambda}$
 Q_{ext} คือ สัมประสิทธิ์การสูญเสีย (extinction efficiency)
 Q_{sca} คือ สัมประสิทธิ์การดูดกลืน (absorption efficiency)

Q_{abs} คือ สัมประสิทธิ์การดูดกลืน (absorption efficiency)

ในทฤษฎีของมี (Mie's theory) ได้เสนอว่าสมบัติทางแสงของอนุภาคนาโนเกิดจากอันตรกิริยาของกลุ่มประจุเล็กตรอนที่ผิวอนุภาคกับคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า สำหรับอนุภาคที่ศึกษามีขนาดเล็ก scattering efficiency จะมีค่าน้อยกว่า extinction efficiency มากๆ จะได้ว่า $Q_{sca} \ll Q_{ext}$ ดังนั้น สมการ 2.3 จะลดรูปตั้งสมการ 2.6

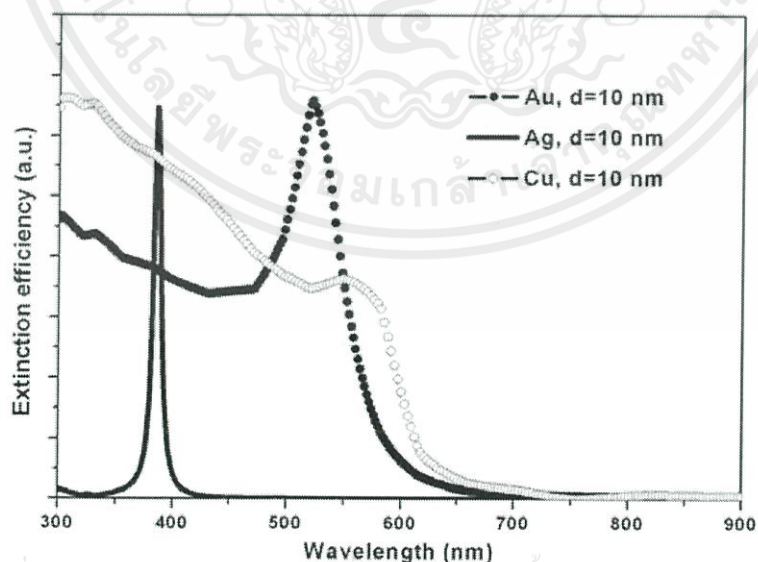
$$Q_{ext} = Q_{abs} \quad (2.6)$$

หรือ เขียนให้อยู่ในรูป extinction cross-section และ absorption cross-section ได้ว่า

$$C_{ext} = C_{abs} \quad (2.7)$$

เมื่อ $Q = C/\pi a^2$

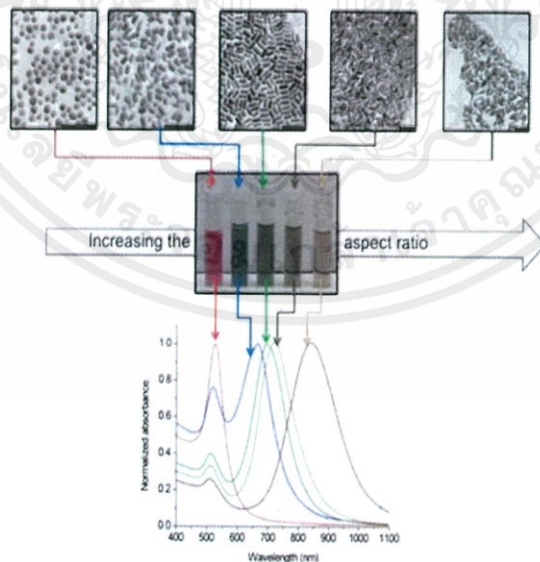
จากสมการ 2.3 – 2.7 สมบัติทางแสงของอนุภาคนาโนของโลหะ เป็นผลลัพธ์จากอันตรกิริยาของกลุ่มประจุเล็กตรอนที่ผิวอนุภาคกับคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า ซึ่งจะขึ้นอยู่กับชนิดของโลหะ และเป็นสมบัติเฉพาะตัว (characteristic peak) ของแต่ละธาตุ รวมทั้งขึ้นอยู่กับขนาด รูปร่างของอนุภาคนาโนของโลหะเหล่านั้น สำหรับสมบัติทางแสงที่ขึ้นอยู่กับชนิดของโลหะ แสดงดังรูปที่ 2.4 โดยตำแหน่ง extinction efficiency หรือยอดการดูดกลืน (absorption peak) จะสัมพันธ์กับการมองเห็นสีของอนุภาคนาโนของโลหะ เช่น อนุภาคนาโนทองคำ เงิน และทองแดง จะปรากฏสีแดง เหลือง และเขียว ตามลำดับ



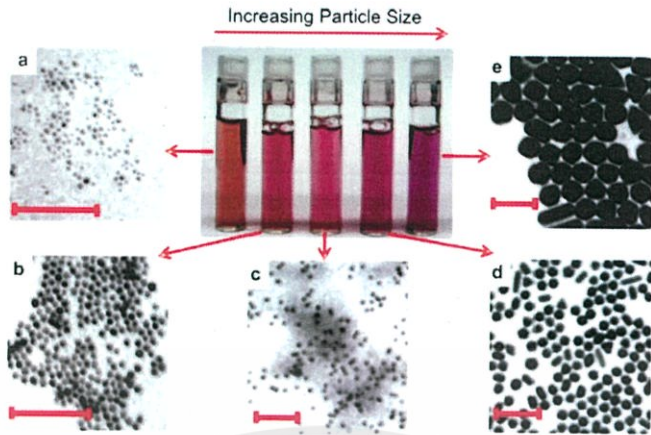
รูปที่ 2.4 ความสัมพันธ์ระหว่าง ความยาวคลื่นแสงกับ extinction efficiency ของอนุภาคนาโนทองคำ เงิน และทองแดง ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 นาโนเมตร [6]

2.4 การเปลี่ยนสีของอนุภาคนาโนทองคำ ในเชิง SPR [7]

ทองคำแบบก้อน (bulk material) มีสีเหลือง เนื่องจากทองนั้นดูดกลืนแสงสีน้ำเงินที่อยู่ในช่วงปลายของความยาวคลื่นที่สามารถมองเห็นได้ เมื่อทองคำมีขนาดเล็กลงอยู่ในระดับนาโนที่มีขนาดตั้งแต่ 5 นาโนเมตรขึ้นไป จะยังคงมีลักษณะสมบัติเหมือนกันกับทองคำทั่วไป แต่เมื่อมีขนาดต่ำกว่า 5 นาโนเมตร จะมีลักษณะสมบัติที่แตกต่างจากทองคำ ได้แก่ สีของอนุภาคนาโนของทองคำจะมีสีหลากหลาย เช่น แดง ฟ้า เขียว หรือน้ำตาล ซึ่งไม่ได้ปรากฏเป็นสีทองเหมือนกับทองคำทั่วไป สีที่แตกต่างนี้เกิดจากการทำปฏิกิริยาของอิเล็กตรอนในแถบของ conduction ในอนุภาคนาโนโลหะกับสนามไฟฟ้าที่มาจากแสงที่ตกกระทบ ซึ่งทำให้เกิดการแทรกสอดของอิเล็กตรอนใน conduction band เกิดขึ้น ซึ่งการแทรกสอดนี้เรียกว่า localized surface plasmon resonance (LSPR) ซึ่งเกิดภายใต้สเปคตรัมของแสงวิซิเบิล และแสงใกล้อินฟราเรด ซึ่งเมื่ออนุภาคนาโนทองคำมีขนาดเล็กลง ความถี่ในการสั่นของอิเล็กตรอนจะมาก ส่งผลให้เกิดพลังงานมาก ดังนั้นอนุภาคทองคำนาโนจึงเปลี่ยนไปดูดกลืนแสงสีเขียวที่ความยาวคลื่นสั้น (ความยาวคลื่นประมาณ 520 นาโนเมตร) ทำให้อนุภาคทองระดับนาโนมีสีแดงทึบเข้ม ถ้าอนุภาคทองระดับนาโนมีขนาดใหญ่ขึ้นก็จะทำให้ทองเปลี่ยนไปเป็นสีอื่นได้ เนื่องจากความถี่ในการสั่นของอิเล็กตรอนลดลง ส่งผลให้พลังงานลดลง อนุภาคทองคำนาโนจึงดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสูงขึ้น ทำให้ทองเปลี่ยนไปเป็นสีอื่นตั้งแต่สีชมพูจนถึงสีม่วง โดยการเปล่งแสงสีต่างๆ นี้จะขึ้นอยู่กับรูปร่าง ขนาด ความถี่ และความสูงของคลื่น ของอิเล็กตรอนอิสระที่ผิวของอนุภาคนาโนของทองคำ เช่น ทองคำในรูปของแท่งนาโนจะสามารถดูดซับแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 800-1200 นาโนเมตร เป็นต้น การเปล่งแสงของอนุภาคนาโนทองคำที่มีรูปร่างและขนาดแตกต่างกันแสดงในรูปที่ 2.5 และ 2.6



เอกสารรูปที่ 2.5 การเปล่งแสงของอนุภาคนาโนทองคำที่มีลักษณะรูปร่างต่างๆ ตามความยาวคลื่นที่แตกต่างกันด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



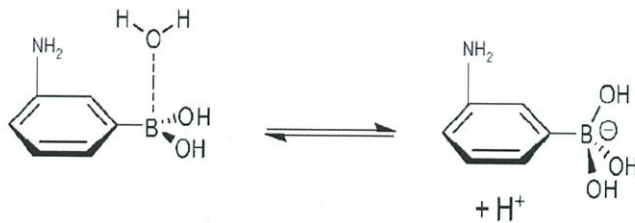
รูปที่ 2.6 แสดงสีของอนุภาคทองระดับนาโนที่ขนาดต่างๆ (ภาพ a ขนาดอนุภาค 5 นาโนเมตร, ภาพ b ขนาดอนุภาค 10 นาโนเมตร, ภาพ c ขนาดอนุภาค 20 นาโนเมตร, ภาพ d ขนาดอนุภาค 50 นาโนเมตร และภาพ e ขนาดอนุภาค 100 นาโนเมตร) [8]

จากข้อดีต่างๆ ของอนุภาคนาโนทองคำ ที่มีสมบัติทางกายภาพและทางเคมีแตกต่างไปจากทองคำทั่วไป เช่น มีอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ผิวต่อปริมาตรสูง ช่วยในการเร่งปฏิกิริยาเคมี นำไฟฟ้าได้ดี และมีสีที่เปลี่ยนตามขนาดของอนุภาค เป็นต้น ทำให้สามารถประยุกต์ใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่ง นำมาประยุกต์ใช้ทางด้านเคมีวิเคราะห์ เพื่อวิเคราะห์หาสารต่างๆ ที่สนใจ ทั้งด้านสิ่งแวดล้อม อาหารและการแพทย์

2.5 หลักการตรวจวัด

2.5.1 โครงสร้างของ 3-aminophenylboronic acid (APBA)

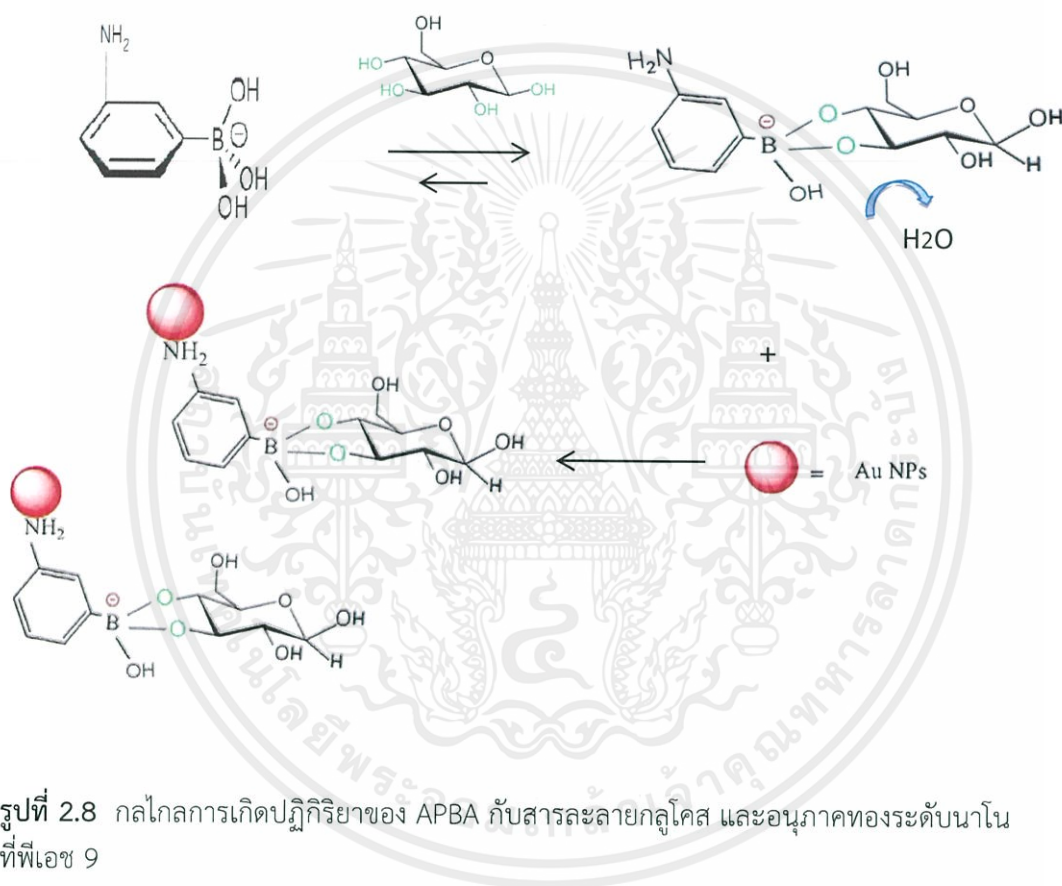
เมื่อ 3-aminophenylboronic acid ละลายอยู่ในน้ำ โดยจะเกิดโครงสร้างได้ 2 แบบ ซึ่งสามารถผันกลับได้ ดังรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.7 โครงสร้างของ 3-aminophenylboronic acid ที่ละลายน้ำ

2.5.2 การศึกษาการตรววจัดกลูโคสที่พีเอช 9

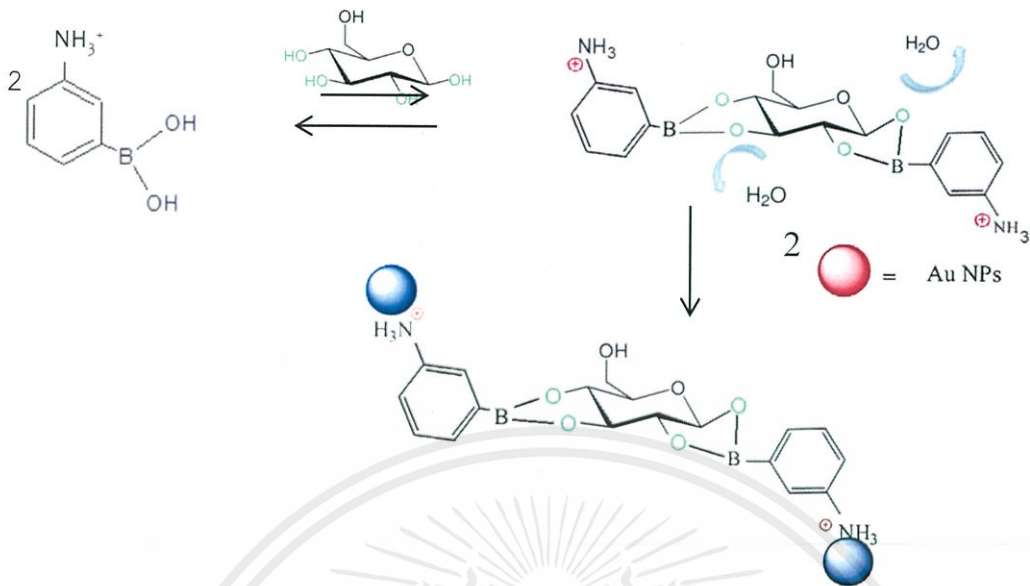
ในการศึกษาการตรววจัดกลูโคสที่พีเอช 9 โดย APBA ที่อยู่ในรูปของแอนไอออนจะทำปฏิกิริยากับสารละลายกลูโคสก่อน จากรูปที่ 2.8 จะเห็นว่าสารละลายกลูโคสจะเข้าไปทำปฏิกิริยากับ APBA ที่หมู่ boronic เกิดไฮโดรไลซิสของน้ำ จากนั้นจึงนำไปทำปฏิกิริยากับสารละลายอนุภาคทองระดับนาโน โดยสารละลายอนุภาคทองนาโนนั้นจะเข้าไปเกาะที่หมู่เอมีน ($-NH_3^+$) ของ 3-aminophenylboronic acid เนื่องจากประจุลบที่เกิดขึ้นตรงหมู่ boronic จึงทำให้ไม่เกิดการรวมตัวกันของอนุภาคทองระดับนาโน สีของสารละลายจึงเป็นสีแดง ดังรูปที่ 2.8



รูปที่ 2.8 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของ APBA กับสารละลายกลูโคส และอนุภาคทองระดับนาโนที่พีเอช 9

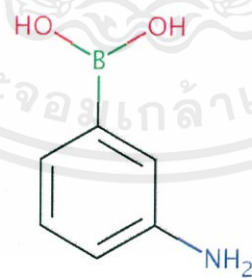
2.5.3 การศึกษาการตรววจัดกลูโคสที่พีเอช 6

ในการศึกษาการตรววจัดกลูโคสที่พีเอช 6 โดยจะให้ APBA ทำปฏิกิริยากับสารละลายกลูโคสก่อน จะเห็นว่า APBA ที่อยู่ในสภาวะเบส 2 โมเลกุลจะทำปฏิกิริยากับสารละลายกลูโคส 1 โมเลกุล เกิดไฮโดรไลซิสออกมาเป็นน้ำ 2 โมเลกุล จากนั้นเมื่อนำไปทำปฏิกิริยากับสารละลายอนุภาคทองระดับนาโน สารละลายอนุภาคทองนาโนจะเข้าไปเกาะที่หมู่เอมีน ($-NH_3^+$) 2 ตำแหน่งใน 1 โมเลกุล ทำให้เกิดการรวมตัวกัน สีของสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนจึงเปลี่ยนสีจากสีแดงเป็นสีม่วง ดังรูปที่ 2.9 ทั้งนี้ อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.9 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของ APBA กับสารละลายกลูโคส และอนุภาคทองระดับนาโนที่พีเอช 6

โดยค่า pKa ของ 3-aminophenylboronic acid (APBA) มีค่าเท่ากับ 8.86 จากโครงสร้างในรูปที่ 2.10 จะเห็นว่า APBA นั้นจะประกอบไปด้วยหมู่ boronic และหมู่อะมิโน ซึ่งหมู่อะมิโนนั้นจะมีค่า pKa มากกว่าหมู่ boronic ทำให้เมื่อ APBA ทำปฏิกิริยากับสารละลายกลูโคส จึงทำให้กลูโคสเข้าไปทำปฏิกิริยาที่หมู่ boronic ได้ง่ายกว่า



รูปที่ 2.10 โครงสร้างของ 3-aminophenylboronic acid (APBA)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Y.-P. Li และคณะ [9] ได้พัฒนาวิธีการอย่างง่ายสำหรับการหาปริมาณกลูโคสด้วยเทคนิคการวัดความเข้มสี โดยอาศัยการเกิดอันตรกิริยาระหว่างกลูโคสกับอนุภาคทองระดับนาโนที่ติดหมู่ฟังก์ชันด้วย 3-aminophenylboronic acid (APBA) ในสถานะที่แตกต่างกัน ได้แก่ ที่ pH 6.0 และ 9.0 พบว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ เท่ากับ $64 \mu\text{mol/L}$ และ $48 \mu\text{mol/L}$ ตามลำดับ วิธีนี้ถูกนำไปประยุกต์ใช้สำหรับการตรวจวัดกลูโคสในตัวอย่างน้ำลายเทียมได้เป็นผลสำเร็จ อีกทั้งมีข้อดีคือ ใช้งานง่าย ราคาถูก และไม่ต้องใช้เอนไซม์ในการตรวจวัด

G. Palazzo และคณะ [10] ได้วิเคราะห์หาปริมาณกลูโคสด้วยเทคนิคการวัดความเข้มสี โดยการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโน จากการใช้กลูโคสเป็น reducing agent ในสถานะที่แตกต่างกัน ได้แก่ pink assay และ blue assay โดย pink assay เป็นการเติม tetrachloroauric acid, cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) และกลูโคส ให้ทำปฏิกิริยากันใน carbonate buffer (pH 10) ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที ได้สารละลายเป็นสีชมพู แล้ววัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสง พบว่าความยาวคลื่นที่ดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) คือ 530 นาโนเมตร ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ เท่ากับ $10 \mu\text{mol/L}$ อีกสถานะหนึ่ง คือ blue assay ใช้ tetrachloroauric acid และกลูโคส ละลายใน phosphate buffer (pH 7) จากนั้นทำปฏิกิริยากับ glucose oxidase (GOD) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที ได้สารละลายเป็นสีน้ำเงิน แล้ววัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสง พบว่าความยาวคลื่นที่ดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) คือ 585 นาโนเมตร ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ เท่ากับ $5 \mu\text{mol/L}$

K.R. Lim และคณะ [11] ได้ตรวจวัดหาปริมาณกลูโคสด้วยเทคนิคการวัดความเข้มสี โดยอาศัยการเกิดอันตรกิริยาระหว่าง mannose – stabilized gold nanoparticles กับ Con A ทำให้เกิด Aggregation ขึ้น โดยตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร เมื่อเติมกลูโคส พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงจะลดลงตามความเข้มข้นของกลูโคสที่เพิ่มขึ้น ค่าความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 500 – 4000 $\mu\text{g/mL}$ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ เท่ากับ 363 $\mu\text{g/mL}$ วิธีนี้ถูกนำไปประยุกต์ใช้สำหรับการตรวจวัดกลูโคสในตัวอย่างซีรัมของมนุษย์ได้เป็นผลสำเร็จ

Y. Ma และคณะ [12] ได้ตรวจวัดหาปริมาณกลูโคส โดยใช้ 3-aminophenylboronic acid (3-APBA) เป็น reductive agent ในการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโน และเกิดอันตรกิริยากับ polyvinyl alcohol (PVA) จากนั้นเติมกลูโคส พบว่าค่าการดูดกลืนแสงจะลดลงตามความเข้มข้นของกลูโคสที่เพิ่มขึ้น

X. Chen และคณะ [13] ได้พัฒนาวิธีการอย่างง่ายสำหรับการหาปริมาณกลูโคสด้วยเทคนิคการวัดความเข้มสี โดยใช้ bienzyme และตรวจวัดบน Microfluidic paper-based analysis devices (μPAD) สีที่เกิดขึ้นจากการทำปฏิกิริยากับกลูโคส ตรวจวัดได้ 2 วิธี ได้แก่ Gel Documentation system พบว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ เท่ากับ $3.81 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ อีกวิธีหนึ่ง คือ ใช้กล้องถ่ายรูปทั่วไป พบว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ เท่ากับ $2.13 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ ซึ่งวิธีนี้ถูกนำไปประยุกต์ใช้สำหรับการตรวจวัดกลูโคสในตัวอย่างซีรัมของมนุษย์ได้เป็นผลสำเร็จ อีกทั้งเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์กับวิธีของโรงพยาบาล พบว่าวิธีนี้มีราคาถูก ใช้งานง่าย และใช้เวลาในการวิเคราะห์รวดเร็วกว่า

H.J. Chun และคณะ [14] ได้พัฒนาวิธีการอย่างง่ายสำหรับการหาปริมาณกลูโคสด้วยเทคนิค Paper – based optical biosensor ประดิษฐ์โดยใช้วิธี wax printing ได้มีการหดยดสารทดสอบ ได้แก่ glucose oxidase (GOx), horseradish peroxidase (HRP) และ chromogenic compound ลงบน detection zone เมื่อทำปฏิกิริยากับกลูโคสจะได้ผลิตภัณฑ์เป็นสีฟ้าเกิดขึ้น ถ่ายรูปด้วยกล้องโทรศัพท์มือถือ แล้วนำไปหาปริมาณกลูโคสโดยใช้โปรแกรม Image J software[®]

N.J. Lang และคณะ [13] ได้วิเคราะห์หาปริมาณกลูโคสจากการเกิด glucose oxidation โดยใช้อุณหภูมิของระดับนาโนในการออกซิไดส์ glucose ทำให้เกิด hydrogen peroxide จากนั้นวัดความเข้มสี โดยการเติม nanoceria จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นสีเหลืองเกิดขึ้น ในการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์ พบว่าเวลาที่เหมาะสมในการทดลอง คือ 30 นาที อุณหภูมิที่เหมาะสมในการทดลอง คือ 25 – 50 องศาเซลเซียส และ pH ที่เหมาะสมในการทดลอง คือ 8 แต่วิธีนี้ไม่เหมาะสำหรับการตรวจวัดกลูโคสโดยตรง เพราะอุณหภูมิของระดับนาโนสามารถออกซิไดส์ galactose ได้เช่นกัน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 ตารางสรุปงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เทคนิค	สารวิเคราะห์ และตัวอย่าง	หมู่ฟังก์ชัน/ เอนไซม์ที่ติดบน อนุภาคของระดับนาโน	ช่วงความเป็นเส้นตรง	ค่าความเข้มข้น ต่ำสุด	เอกสารอ้างอิง
คัลเลอริเมตรี	กลูโคส	3-aminophylboronic acid (APBA)	pH 6.0 : 0.1 – 9.8 mmol/L pH 9.0 : 0 - 6.5 mmol/L	64 μ M/L 48 μ M/L	[9]
คัลเลอริเมตรี	น้ำตาล และ กลูโคสในเครื่องดื่ม	เอนไซม์กลูโคสออกซิเดส (GOD)		Pink assay : 10 mol/L Blue assay : 5 mol/L	[10]
คัลเลอริเมตรี	กลูโคสในซีรัม มนุษย์	Concanavalin A (Con A)	500 - 4000 μ g/ml	363 μ g/ml	[11]
ยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟ โตเมตรี	กลูโคส	Polyvinyl alcohol (PVA)	1 μ M – 10 mM	-	[12]
คัลเลอริเมตรี	กลูโคส	nanoceria	-	-	[15]

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

3.1.1 สารเคมี

ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	ความบริสุทธิ์ (%)	ยี่ห้อและประเทศผู้ผลิต
เตตระคลอโรอริก แอซิด (Tetrachloroauric (III) acid)	HAuCl_4	99.9	Sigma,USA
โซเดียมซิเตรท ไดไฮเดรต (Sodiumcitrate-dihydrate)	$\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\cdot 2\text{H}_2\text{O}$	99	Sigma,USA
3-อะมิโนฟีนิลโบโรนิก แอซิด (3-aminophenylboronic acid,APBA)	$\text{C}_6\text{H}_8\text{BNO}_2$	98	Acros,USA
กลูโคส (Glucose)	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$	99.50	Sigma,USA
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodiumhydroxide)	NaOH	98	Sigma,USA

3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องตรวจวัด

1. ขวดวัดปริมาตร	ขนาด 100	มิลลิลิตร
	ขนาด 25	มิลลิลิตร
	ขนาด 10	มิลลิลิตร
2. บีกเกอร์	ขนาด 25	มิลลิลิตร
	ขนาด 50	มิลลิลิตร
	ขนาด 100	มิลลิลิตร
	ขนาด 250	มิลลิลิตร
3. ไมโครปิเปต	ขนาด 100	ไมโครลิตร
	ขนาด 1000	ไมโครลิตร
	ขนาด 5	มิลลิลิตร
4. ขวดรูปชมพู่ พร้อมฝาปิด	ขนาด 250	มิลลิลิตร
5. ไมโครปิเปตทิป		
6. ซ้อนตักสาร		
7. แท่งแก้วคนสาร		
8. หลอดหยด		
9. แท่งแม่เหล็ก		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ผู้เขียนขอสงวนสิทธิ์ให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10. แผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์
11. เทอร์โมมิเตอร์
12. เครื่องชั่งสาร-Suimadzu Aux 220,Japan
13. เครื่องปั่นเหวี่ยง Vertex – Genie2,USA
14. เครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า พร้อมด้วยแท่งแม่เหล็กไฟฟ้า-Heidolph
15. เครื่องวัด pH – Metrohm[®] 827 pH Lab Meter,USA
16. เครื่องให้ความร้อน - IKA[®] – MAGHS 7,Malaysia
17. เครื่อง UV – Visible spectrophotometer – Jasco V630,USA

3.2 การเตรียมสารละลาย

สารละลายทั้งหมดใช้น้ำกลั่นปราศจากไอออนที่ได้จากเครื่อง Zener up 900 (ยี่ห้อ Human comporation[®]) ในการเตรียม และสารเคมีทุกตัวเป็นเกรดสำหรับงานวิเคราะห์ทางเคมี (Analytical reagent grade, AR)

3.2.1 การเตรียมสารละลาย 0.01 % w/v Tetrachloroauric acid

1. ชั่ง Tetrachloroauric acid ด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง จำนวน 0.0116 กรัม
2. ละลายด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน และปรับปริมาตรจนได้ 100 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร

3.2.2 การเตรียมสารละลาย 1 % wt Trisodium citrate

1. ชั่ง Trisodium citrate ด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง จำนวน 0.2849 กรัม
2. ละลายด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน และปรับปริมาตรจนได้ 25 มิลลิลิตรในขวดวัดปริมาตร 25 มิลลิลิตร

3.2.3 การเตรียมสารละลาย APBA ความเข้มข้น 1000 ไมโครโมลต่อลิตร

1. ชั่ง APBA ด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง จำนวน 0.0038 กรัม
2. ละลายด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน และปรับปริมาตรจนได้ 25 มิลลิลิตรในขวดวัดปริมาตร 25 มิลลิลิตร

3.2.4 การเตรียมสารละลาย APBA ความเข้มข้น 30 ไมโครโมลต่อลิตร

1. ปิเปต APBA ความเข้มข้น 1000 ไมโครโมลต่อลิตร มา 0.75 มิลลิลิตร
2. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนจนได้ 25 มิลลิลิตรในขวดวัดปริมาตรวัดปริมาตร 25 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.5 การเตรียมสารละลาย Sodium hydroxide ความเข้มข้น 1 โมลต่อลิตร

1. ชั่ง Sodium hydroxide มา 2 กรัม
2. นำมาละลายด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน และปรับปริมาตรจนได้ 50 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตร 50 มิลลิลิตร

3.2.6 การเตรียมสารละลาย Sodium hydroxide ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลต่อลิตร

1. ปิเปต Sodium hydroxide ความเข้มข้น 1 โมลต่อลิตร มา 2.5 มิลลิลิตร
2. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนจนได้ 25 มิลลิลิตรในขวดวัดปริมาตร 25 มิลลิลิตร

3.2.7 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Glucose 500 มิลลิโมลต่อลิตร

1. ชั่งสารมาตรฐาน Glucose ด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง จำนวน 4.5040 กรัม
2. ละลายด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน และปรับปริมาตรจนได้ 50 มิลลิลิตรในขวดวัดปริมาตร 50 มิลลิลิตร

3.2.8 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Glucose ที่ความเข้มข้นต่างๆ เพื่อใช้สร้างกราฟมาตรฐาน

แสดงได้ดังตารางที่ 3.1 โดยทุกความเข้มข้นปรับให้ได้ปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 10.00 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน

ตารางที่ 3.1 ตารางแสดงการเตรียมสารละลายมาตรฐาน Glucose ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ปริมาตรสารละลายมาตรฐานกลูโคส ความเข้มข้น 500 mM ที่ต้องปิเปต (ml)	ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ต้องการเตรียม (mM)
3.0	150
4.0	200
5.0	250
6.0	300

3.2.9 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Glucose 100 มิลลิโมลต่อลิตร

1. ปิเปตสารละลายมาตรฐาน Glucose ความเข้มข้น 500 mM ปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตร 50 มิลลิลิตร
2. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน จนได้ 50 มิลลิลิตร

3.2.10 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Glucose ที่ความเข้มข้นต่างๆ เพื่อใช้สร้างกราฟมาตรฐาน

แสดงได้ดังตารางที่ 3.2 โดยทุกความเข้มข้นปรับให้ได้ปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 10.00 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน

ตารางที่ 3.2 ตารางแสดงการเตรียมสารละลายมาตรฐาน Glucose ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ปริมาตรสารละลายมาตรฐานกลูโคส ความเข้มข้น 100 mM ที่ต้องปิเปต (ml)	ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ต้องการเตรียม (mM)
1.0	1
2.5	25
5.0	50
7.5	75

3.2.11 การเตรียมสารละลายตัวอย่างเพื่อศึกษาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ

3.2.11.1 ตัวอย่างเครื่องตีเมล็ดแร่

1. ปิเปตตัวอย่างเครื่องตีเมล็ดแร่ชนิดที่ 1 ที่เจือจาง 100 เท่า มา 0.25 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้น 500 มิลลิโมลต่อลิตร จำนวน 2.5 มิลลิลิตร
3. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนจนได้ 25 มิลลิลิตรในขวดวัดปริมาตร 25 มิลลิลิตร
4. ทำการทดลองซ้ำตั้งแต่ข้อ 1 ถึงข้อ 3 เปลี่ยนเครื่องตีเมล็ดแร่เป็นชนิดที่ 2 และ 3 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกสิ่งนี้ไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาตจากเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.11.2 ตัวอย่างปัสสาวะ

1. ปิเปตตัวอย่างปัสสาวะที่เจือจาง 250 เท่า มา 0.25 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้น 500 มิลลิโมลต่อลิตร จำนวน 7.5 มิลลิลิตร
3. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนจนได้ 25 มิลลิลิตรในขวดวัดปริมาตร 25 มิลลิลิตร
4. ทำการทดลองซ้ำตั้งแต่ข้อ 1 ถึงข้อ 3 เปลี่ยน Sample 1 เป็น 2 และ 3 ตามลำดับ

3.2.12 การเตรียมตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่

3.2.12.1 การเจือจางตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่ 100 เท่า

ตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่ทั้งหมดแบ่งออกเป็น 3 ชนิด ได้แก่ ชนิดที่ 1, 2 และ 3 ตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่ทุกชนิดจะถูกกรองผ่าน Nylon membrane ขนาด 0.22 ไมโครเมตร (Agela Technologies, USA) แล้วปิเปตมา 0.25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนจนได้ 25 มิลลิลิตรในขวดวัดปริมาตร 25 มิลลิลิตร

3.2.13 การเตรียมตัวอย่างปัสสาวะ

3.2.13.1 การเก็บตัวอย่างปัสสาวะ

ให้ถ่ายปัสสาวะช่วงแรกทิ้งไปก่อน แล้วนำภาชนะรองปัสสาวะช่วงกลาง ประมาณ ใน 3 ของภาชนะบรรจุ

3.2.13.2 การเจือจางตัวอย่างปัสสาวะ 250 เท่า

ตัวอย่างปัสสาวะแบ่งออกเป็น 3 ตัวอย่าง ได้แก่ Sample 1, 2 และ 3 ตัวอย่างปัสสาวะทั้งหมดจะถูกกรองผ่าน Nylon membrane ขนาด 0.22 ไมโครเมตร (Agela Technologies, USA) แล้วปิเปตมา 0.1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนจนได้ 25 มิลลิลิตรในขวดวัดปริมาตร 25 มิลลิลิตร

3.2.13.3 การเก็บรักษาตัวอย่างปัสสาวะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า การเก็บรักษาไม่ควรเกิน 2 ชั่วโมงนับจากการเก็บตัวอย่าง หากไม่สามารถตรวจได้ทันที ควรเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.3 วิธีดำเนินการทดลอง

3.3.1 การสังเคราะห์อนุภาคทองคำนาโน

1. นำสารละลาย 0.01 % w/v Tetrachloroauric acid 100 มิลลิลิตร ใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร
2. ให้ความร้อนจนเดือดและปั่นกวนที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส
3. เติม 1 % wt Trisodium citrate 3.2 มิลลิลิตร
4. ให้ความร้อนและปั่นกวนต่อ 15 นาที สีของสารละลายจะเปลี่ยนจากเหลืองอ่อนเป็นไวน์แดง
5. ทิ้งให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง
6. วัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองคำระดับนาโนด้วยเครื่อง UV-Visible spectrometer ที่ช่วงความยาวคลื่น 400-800 นาโนเมตร
7. วัด pH ของอนุภาคทองคำระดับนาโนด้วยเครื่อง pH meter

3.3.2 ศึกษาอิทธิพลของตัวแปรต่างๆ ที่มีผลต่อการตรวจวัด Glucose โดยใช้อนุภาคทองคำนาโนที่ติดหมู่ฟังก์ชัน ที่ pH 9.0

3.3.2.1 ศึกษาปริมาณสารละลายอนุภาคทองคำระดับนาโนที่เหมาะสมที่ pH 9.0

1. เตรียมสารละลายอนุภาคทองคำระดับนาโนที่ปริมาตรต่างๆ

ตารางที่ 3.3 ตารางแสดงการเตรียมสารละลายอนุภาคทองคำระดับนาโนที่ปริมาตรต่างๆ

ปริมาตร AuNPs Solution (ml)	ปริมาตร Stock APBA Solution (μ l)	ปริมาตรสุดท้าย (ml)	สารละลายที่ใช้ปรับปริมาตร
1.0	300	10.0	น้ำกลั่นปราศจากไอออน
2.0	300	10.0	
4.0	300	10.0	
6.0	300	10.0	
8.0	300	10.0	

2. เขย่าสารด้วยเครื่อง Vortex 5 นาที

3. ทิ้งไว้ 30 นาที

4. นำสารละลายที่ได้ไปวัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-

Visible spectrometer ที่ช่วงความยาวคลื่น 400-800 นาโนเมตร

3.3.2.2 ศึกษาความเข้มข้นของ APBA ที่เหมาะสมที่ pH 9.0

1. เตรียมสารละลาย APBA ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ตารางที่ 3.4 ตารางแสดงการเตรียมสารละลาย APBA ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ปริมาตร Stock Solution (μl)	ความเข้มข้น APBA สู้สุดท้าย (μM)	ปริมาตรสุดท้าย (ml)	สารละลายที่ใช้ปรับปริมาตร
10	1	10.0	น้ำกลั่นปราศจากไอออน
50	5	10.0	
100	10	10.0	
200	20	10.0	
300	30	10.0	

2. เติมสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนจำนวน 8 มิลลิลิตร

3. เขย่าสารด้วยเครื่อง Vortex 5 นาที

4. ทิ้งไว้ 30 นาที

5. วัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Visible spectrometer ในช่วงความยาวคลื่น 400-800 นาโนเมตร

6. ปรับ pH เป็น 9.0 ด้วย Sodium hydroxide ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลต่อลิตร

7. เติม Glucose ความเข้มข้น 500 มิลลิโมลต่อลิตร จำนวน 500 ไมโครลิตร

8. เขย่าสารด้วยเครื่อง Vortex 5 นาที

9. วัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Visible spectrometer ในช่วงความยาวคลื่น 400-800 นาโนเมตร

3.3.2.3 ศึกษาลำดับการทำปฏิกิริยาที่ pH 9.0

(ก) สารละลายอนุภาคทองระดับนาโนที่ปรับ pH เป็น 9.0 และติดฟังก์ชัน APBA แล้วนำไปทำปฏิกิริยากับสารละลายกลูโคส

1. เติมสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนจำนวน 8 มิลลิลิตร, น้ำกลั่นปราศจากไอออนจำนวน 1.7 มิลลิลิตร และ APBA ความเข้มข้น 1000 ไมโครโมลต่อลิตรจำนวน 300 ไมโครลิตร ลงไปในหลอดทดลอง

ตามลำดับ

2. เขย่าสารด้วยเครื่อง Vortex 5 นาที

3. ทิ้งไว้ 30 นาที

4. ปรับ pH เป็น 9.0 ด้วย Sodium hydroxide ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลต่อลิตร
5. วัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Visible spectrometer ที่ช่วงความยาวคลื่น 400-800 นาโนเมตร
6. เติม Glucose ความเข้มข้น 500 มิลลิโมลต่อลิตร จำนวน 500 ไมโครลิตร
7. เขย่าสารด้วยเครื่อง Vortex 5 นาที
8. วัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrometer ที่ช่วงความยาวคลื่น 400-800 นาโนเมตร

(ข) สารละลายอนุภาคทองระดับนาโนที่ติดฟังก์ชัน APBA ปรับ pH เป็น 9.0 แล้วนำไปทำปฏิกิริยากับสารละลายกลูโคส

1. ปรับ pH สารละลายอนุภาคทองระดับนาโนเป็น 9.0 ด้วย Sodium Hydroxide ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลต่อลิตร
2. เติมสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนที่ปรับ pH แล้วจำนวน 8 มิลลิลิตร, น้ำกลั่นปราศจากไอออนจำนวน 1.7 มิลลิลิตร และ Glucose ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลต่อลิตร จำนวน 500 ไมโครลิตร ลงไปในหลอดทดลองตามลำดับ
3. เขย่าสารด้วยเครื่อง Vortex 5 นาที
4. ทิ้งไว้ 30 นาที
5. วัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrometer ที่ช่วงความยาวคลื่น 400-800 นาโนเมตร
6. เติม APBA ความเข้มข้น 1000 ไมโครโมลต่อลิตรจำนวน 300 ไมโครลิตร
7. เขย่าสารด้วยเครื่อง Vortex 5 นาที
8. วัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrometer ที่ช่วงความยาวคลื่น 400-800 นาโนเมตร
9. ทำการทดลองซ้ำตั้งแต่ข้อ 1 ถึงข้อ 8 เปลี่ยนความเข้มข้น Glucose เป็น 50, 100 และ 500 มิลลิโมลต่อลิตรตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ค) สารละลายอนุภาคทองระดับนาโนที่ทำปฏิกิริยากับ APBA pH 9.0 และสารละลายกลูโคส

1. ปรับ pH APBA เป็น 9.0 ด้วย Sodium hydroxide ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลต่อลิตร
2. เติม Glucose ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลต่อลิตร จำนวน 500 ไมโครลิตร และ APBA ความเข้มข้น 1000 ไมโครโมลต่อลิตร จำนวน 300 ไมโครลิตร ลงไปในหลอดทดลองตามลำดับ
3. เขย่าสารด้วยเครื่อง Vortex 1 นาที
4. เติมสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนจำนวน 8 มิลลิลิตร และน้ำกลั่นปราศจากไอออนจำนวน 1.7 มิลลิลิตรตามลำดับ
5. เขย่าสารด้วยเครื่อง Vortex 5 นาที
6. ทิ้งไว้ 30 นาที
7. วัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrometer ที่ช่วงความยาวคลื่น 400-800 นาโนเมตร
8. ทำการทดลองซ้ำตั้งแต่ข้อ 1 ถึงข้อ 7 เปลี่ยนความเข้มข้น Glucose เป็น 10, 100 และ 500 มิลลิโมลต่อลิตรตามลำดับ

3.3.3 ศึกษาอิทธิพลของตัวแปรต่างๆ ที่มีผลต่อการตรวจวัด Glucose โดยใช้อนุภาคทองนาโนที่ติดหมู่ฟังก์ชัน ที่ pH 6.0

3.3.3.1 ศึกษาความเข้มข้นของ APBA ที่เหมาะสมที่ pH 6.0

1. เตรียมสารละลาย APBA ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ตารางที่ 3.5 ตารางแสดงการเตรียมสารละลาย APBA ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ปริมาตร Stock Solution (μl)	ความเข้มข้น APBA สุดท้าย (μM)	ปริมาตร สารละลายอนุภาคทองระดับนาโน (ml)	ปริมาตร น้ำกลั่นปราศจากไอออนที่ใช้ปรับปริมาตร (ml)	ปริมาตร สุดท้าย (ml)
100	10	8.0	1.9	10.0
200	20	8.0	1.8	10.0
300	30	8.0	1.7	10.0
400	40	8.0	1.6	10.0

2. เติม Glucose ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลต่อลิตร จำนวน 500 ไมโครลิตร

3. เขย่าสารด้วยเครื่อง Vortex 1 นาที

4. เติมสารละลายอนุภาคทองระดับนาโน จำนวน 8 มิลลิลิตร และน้ำกลั่นปราศจากไอออน จำนวน 1.9 มิลลิลิตรตามลำดับ

5. เขย่าสารด้วยเครื่อง Vortex 5 นาที
6. ทิ้งไว้ 30 นาที
7. วัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Visible spectrometer ที่ช่วงความยาวคลื่น 400-800 นาโนเมตร
8. ทำการทดลองซ้ำตั้งแต่ข้อ 1 ถึงข้อ 7 เปลี่ยนความเข้มข้น Glucose เป็น 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตรตามลำดับ และ ปริมาตรและ น้ำกลั่นปราศจากไอออน เป็นจำนวน 1.8, 1.7 และ 1.6 มิลลิลิตร ตามลำดับ

3.3.3.2 ศึกษาลำดับการทำปฏิกิริยาที่ pH 6.0

(ก) สารละลายอนุภาคทองระดับนาโนที่ปรับ pH เป็น 6.0 และติดฟังก์ชัน APBA แล้วนำไปทำปฏิกิริยากับสารละลายกลูโคส และ

(ข) สารละลายอนุภาคทองระดับนาโนที่ติดฟังก์ชัน APBA ปรับ pH เป็น 6.0 แล้วนำไปทำปฏิกิริยากับสารละลายกลูโคส

ลำดับในการทำปฏิกิริยาของ (ก) และ (ข) เหมือนกัน โดยไม่ได้มีการปรับ pH ของสารละลายอนุภาคทองระดับนาโน และสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนที่ติดฟังก์ชัน APBA ตามลำดับ เนื่องจาก pH ของสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนมีค่าประมาณ 6.0 จึงได้ทำการรวมวิธีการศึกษาลำดับการทำปฏิกิริยาที่ pH 6.0 ทั้งสองเป็นวิธีการเดียวกัน โดยมีวิธีดำเนินการทดลอง ดังต่อไปนี้

1. เติมสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนจำนวน 8 มิลลิลิตร, น้ำกลั่นปราศจากไอออนจำนวน 1.7 มิลลิลิตร และ APBA ความเข้มข้น 1000 ไมโครโมลต่อลิตรจำนวน 300 ไมโครลิตร ลงไปในหลอดทดลองตามลำดับ
2. เขย่าสารด้วยเครื่อง Vortex 5 นาที
3. ทิ้งไว้ 30 นาที
4. วัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Visible spectrometer ที่ช่วงความยาวคลื่น 400-800 นาโนเมตร
5. เติม Glucose ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลต่อลิตร จำนวน 500 ไมโครลิตร
6. เขย่าสารด้วยเครื่อง Vortex 5 นาที
7. วัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrometer ที่ช่วงความยาวคลื่น 400-800 นาโนเมตร
8. ทำการทดลองซ้ำตั้งแต่ข้อ 1 ถึงข้อ 7 เปลี่ยนความเข้มข้น Glucose เป็น 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตรตามลำดับ

(ข) สารละลายอนุภาคของระดับนาโนที่ทำปฏิกิริยากับ APBA pH 6.0 และสารละลายกลูโคส

1. เติม Glucose ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลต่อลิตร จำนวน 500 ไมโครลิตร และ APBA ความเข้มข้น 1000 ไมโครโมลต่อลิตร จำนวน 300 ไมโครลิตร ลงไปในหลอดทดลองตามลำดับ
2. เขย่าสารด้วยเครื่อง Vortex 1 นาที
3. เติมสารละลายอนุภาคของระดับนาโน จำนวน 8 มิลลิลิตร และน้ำกลั่นปราศจากไอออน จำนวน 1.7 มิลลิลิตรตามลำดับ
4. เขย่าสารด้วยเครื่อง Vortex 5 นาที
5. ทิ้งไว้ 30 นาที
6. วัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Visible spectrometer ที่ช่วงความยาวคลื่น 400-800 นาโนเมตร
7. ทำการทดลองซ้ำตั้งแต่ข้อ 1 ถึงข้อ 6 เปลี่ยนความเข้มข้น Glucose เป็น 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตรตามลำดับ

3.3.4 การศึกษาความเป็นเส้นตรง (Linearity)

1. เติม Glucose ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลต่อลิตร จำนวน 500 ไมโครลิตร และ APBA ความเข้มข้น 1000 ไมโครโมลต่อลิตร จำนวน 300 ไมโครลิตร ลงไปในหลอดทดลองตามลำดับ
2. เขย่าสารด้วยเครื่อง Vortex 1 นาที
3. เติมสารละลายอนุภาคของระดับนาโน จำนวน 8 มิลลิลิตร และน้ำกลั่นปราศจากไอออน จำนวน 1.7 มิลลิลิตรตามลำดับ
4. เขย่าสารด้วยเครื่อง Vortex 5 นาที
5. ทิ้งไว้ 30 นาที
6. วัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Visible spectrometer ที่ช่วงความยาวคลื่น 400-800 นาโนเมตร
7. ทำการทดลองซ้ำตั้งแต่ข้อ 1 ถึงข้อ 6 เปลี่ยนความเข้มข้น Glucose เป็น 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตรตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.5 การศึกษาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ

ในการหาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ จะพิจารณาโดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างเครื่องต้มเกลือแร่และปัสสาวะ ที่เติมสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้นสุดท้าย 50 และ 150 มิลลิโมลต่อลิตร ตามลำดับ ลงไป จากนั้นคำนวณหาความเข้มข้นของตัวอย่างที่มีการเติมสารละลายมาตรฐาน และคำนวณหาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ (% recovery) ตามสูตรดังนี้

$$\% \text{ recovery} = \frac{\text{spiked sample} - \text{sample}}{\text{standard}} \times 100$$

เมื่อ spiked sample คือ ความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่มีการเติมสารละลายมาตรฐาน
sample คือ ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง
standard คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติมลงไป

3.3.6 การศึกษาความเที่ยง

ในการหาความเที่ยงของวิธี จะพิจารณาจากค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative standard deviation, % RSD) โดยทำการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น มิลลิโมลต่อลิตร ซ้ำๆเป็นจำนวน 4 ครั้ง จากนั้นหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ตามสูตรดังนี้

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

เมื่อ SD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
 \bar{x} คือ ค่าเฉลี่ย

3.3.7 การศึกษาขีดจำกัดของการตรวจวัดด้วยตาเปล่า

ในส่วนนี้เป็นการหาขีดจำกัดของการตรวจวัดด้วยตาเปล่า เป็นการศึกษาปริมาณที่ต่ำที่สุดของกลูโคสที่ตรวจวัดได้ โดยอาศัยข้อมูลจากการสร้างกราฟมาตรฐาน

3.3.8 การหาปริมาณกลูโคสในตัวอย่างเครื่องต้มเกลือแร่

1. เติมตัวอย่างเครื่องต้มเกลือแร่ชนิดที่ 1 ที่เจือจาง 100 เท่า จำนวน 500 ไมโครลิตร และ APBA ความเข้มข้น 1000 ไมโครโมลต่อลิตร จำนวน 300 ไมโครลิตร ลงไปในหลอดทดลองตามลำดับ
2. เขย่าสารด้วยเครื่อง Vortex 1 นาที
3. เติมสารละลายอนุภาคทองระดับนาโน จำนวน 8 มิลลิลิตร และน้ำกลั่นปราศจากไอออน จำนวน 1.7 มิลลิลิตรตามลำดับ

4. เขย่าสารด้วยเครื่อง Vortex 5 นาที
5. ทิ้งไว้ 30 นาที
6. วัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Visible spectrometer ที่ช่วงความยาวคลื่น 400-800 นาโนเมตร
7. ทำการทดลองซ้ำตั้งแต่ข้อ 1 ถึงข้อ 6 เปลี่ยนเครื่องตีมเกลียวแร่เป็นชนิดที่ 2 และ 3 ตามลำดับ

3.3.9 การหาปริมาณกลูโคสในตัวอย่างปัสสาวะ

1. เติมตัวอย่างปัสสาวะที่เจือจาง 250 เท่า จำนวน 500 ไมโครลิตร และ APBA ความเข้มข้น 1000 ไมโครโมลต่อลิตร จำนวน 300 ไมโครลิตร ลงไปในหลอดทดลองตามลำดับ
2. เขย่าสารด้วยเครื่อง Vortex 1 นาที
3. เติมสารละลายอนุภาคทองคำระดับนาโน จำนวน 8 มิลลิลิตร และน้ำกลั่นปราศจากไอออน จำนวน 1.7 มิลลิลิตรตามลำดับ
4. เขย่าสารด้วยเครื่อง Vortex 5 นาที
5. ทิ้งไว้ 30 นาที
6. วัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Visible spectrometer ที่ช่วงความยาวคลื่น 400-800 นาโนเมตร
7. ทำการทดลองซ้ำตั้งแต่ข้อ 1 ถึงข้อ 6 เปลี่ยน Sample 1 เป็น 2 และ 3 ตามลำดับ

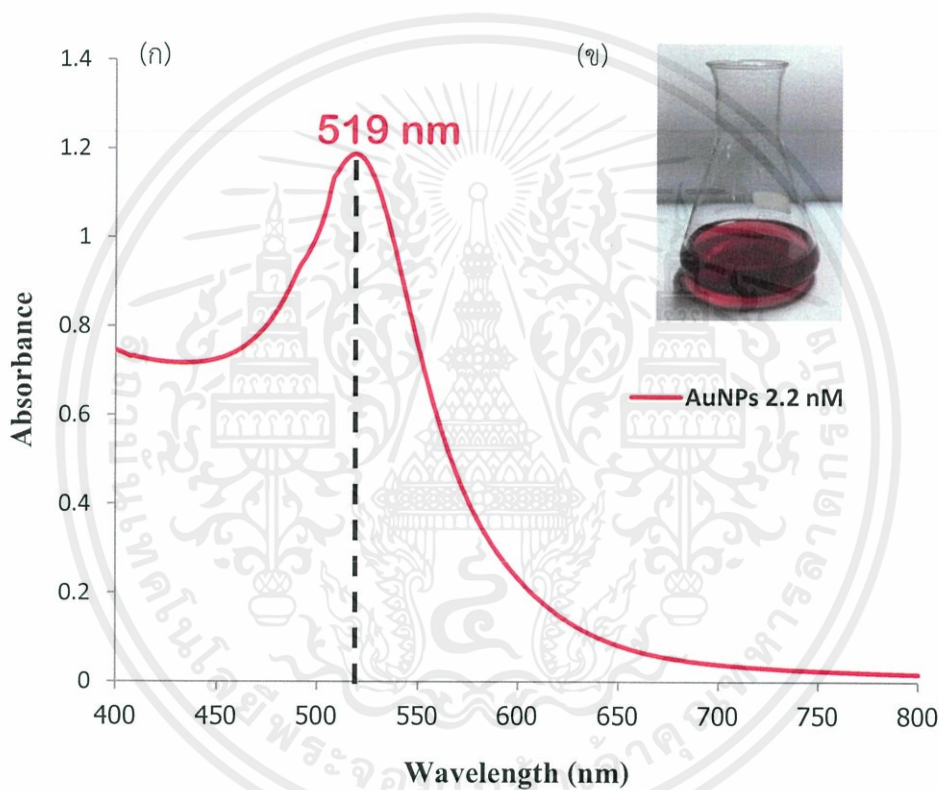
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 ศึกษาสเปกตรัมของอนุภาคทองคำนาโนที่ติดหมู่ฟังก์ชัน (APBA)

ได้ทำการศึกษาสเปกตรัมของอนุภาคทองคำนาโนที่ติดหมู่ฟังก์ชันด้วย APBA พบว่าได้ผลการทดลอง ดังรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 (ก) สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนและอนุภาคทองระดับนาโนที่ติดฟังก์ชัน APBA ($30 \mu\text{M}$)

(ข) รูปถ่ายแสดงอนุภาคทองคำนาโนที่ติดหมู่ฟังก์ชันด้วย APBA ($30 \mu\text{M}$)

จากรูปที่ 4.1 พบว่าความยาวคลื่นสูงสุดในการดูดกลืนแสง (λ_{max}) ของอนุภาคทองระดับนาโน เมื่อปราศจากหมู่ฟังก์ชัน และมีการติดหมู่ฟังก์ชัน มีค่าเท่ากัน คือเท่ากับ 519 นาโนเมตร โดยค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคระดับนาโนที่ติดหมู่ฟังก์ชันมีค่าเปลี่ยนแปลงไปเล็กน้อยจึงสามารถกล่าวได้ว่า การติดหมู่ฟังก์ชันไม่ส่งผลต่อพฤติกรรมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองคำนาโน

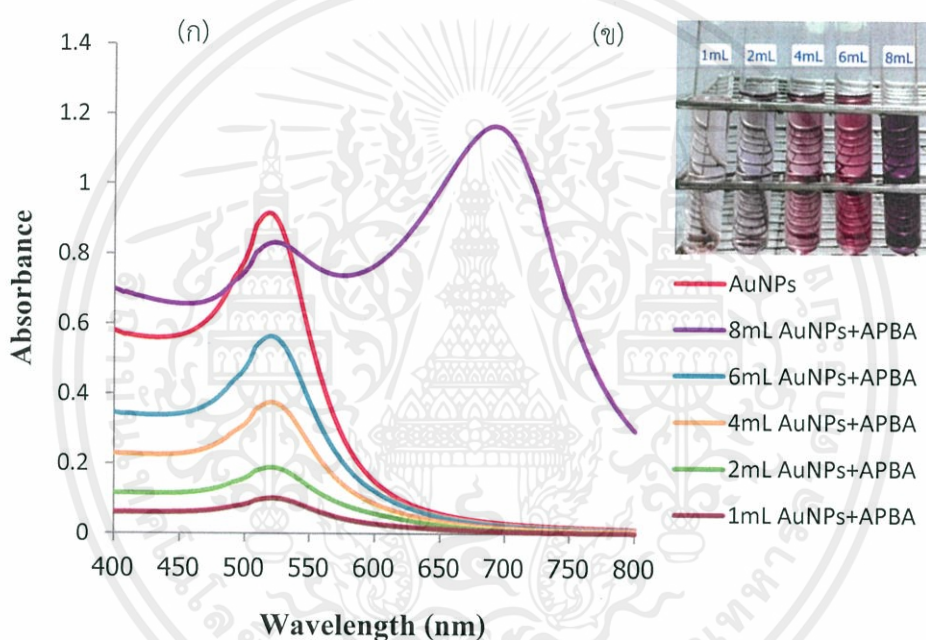
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานภายในเท่านั้น ไม่สามารถเผยแพร่หรือใช้เพื่อการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ศึกษาอิทธิพลของตัวแปรต่างๆ ที่มีผลต่อการตรวจวัดกลูโคส ที่ pH 9.0

4.2.1 ศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนที่ pH 9.0

ได้ทำการศึกษาปริมาณของสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนที่เหมาะสมสำหรับการทดลอง โดยตรวจวัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสง และดูการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย เมื่อใช้อนุภาคทองระดับนาโนที่ปริมาตร 1, 2, 4, 6 และ 8 มิลลิลิตร โดยเป็นอนุภาคทองนาโนที่ติดฟังก์ชันด้วย APBA (30 ไมโครโมลต่อลิตร) ได้ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.2 (ก) และ (ข)



รูปที่ 4.2 (ก) สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนความเข้มข้น 2.2 นาโนโมลต่อลิตร ที่ปริมาตร 1, 2, 4, 6 และ 8 มิลลิลิตร ที่ติดฟังก์ชัน APBA (30 ไมโครโมลต่อลิตร) และ (ข) รูปถ่ายสารละลาย เมื่อใช้อนุภาคทองระดับนาโนที่ปริมาตรต่างๆ

จากรูปที่ 4.2 เราศึกษาการรวมตัวกันของอนุภาคทองระดับนาโนที่ pH 9.0 ซึ่งทุกปริมาตรของอนุภาคทองนาโนต้องเกิดการรวมตัวกัน แต่พบว่า เมื่อใช้ปริมาตรของสารละลายอนุภาคทองระดับนาโน 8 มิลลิลิตร สารละลายเปลี่ยนเป็นสีม่วง และเกิดการดูดกลืนแสงย่านใหม่ขึ้นในช่วงความยาวคลื่น 600 – 800 นาโนเมตร เพียงปริมาตรเดียว ดังนั้นจึงเลือกใช้ปริมาตรนี้ในการทำปฏิกิริยากับ

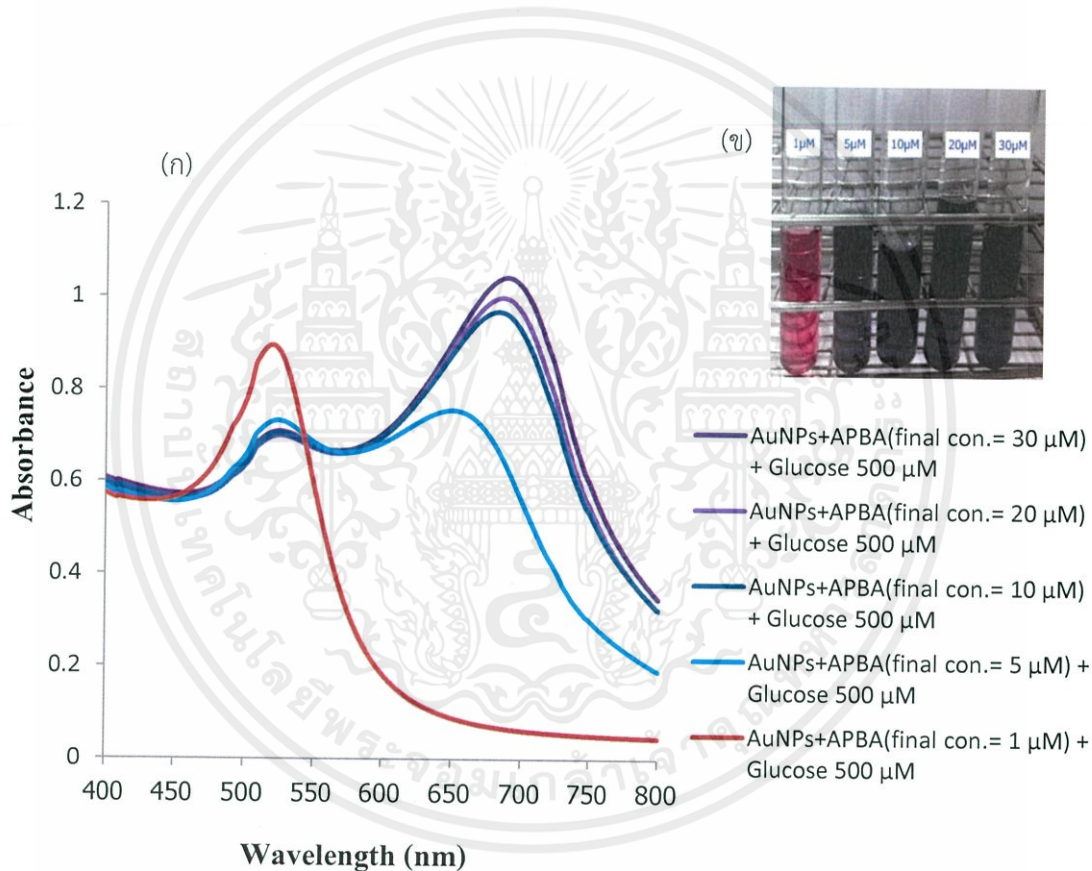
กลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 ศึกษาความเข้มข้นของ APBA ที่เหมาะสม ที่ pH 9.0

ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของ APBA ที่ pH 9.0 พบว่าได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.3 (ก) และ (ข)

จากรูปที่ 4.3 (ก) พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองคำระดับนาโนที่ติดฟังก์ชัน APBA จะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ APBA และจากรูป 4.3 (ข) จะเห็นว่าสารละลายมีสีเข้มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของ APBA เพิ่มขึ้น และเมื่อทำปฏิกิริยากับสารละลายกลูโคสความเข้มข้น 500 mM พบว่าได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.4 โดยสารละลายอนุภาคทองคำระดับนาโนที่ติดฟังก์ชัน APBA ความเข้มข้น 30 ไมโครโมลต่อลิตร มีค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุด ดังนั้นจึงเลือกใช้ APBA ความเข้มข้นสุดท้ายนี้ มาใช้ในการศึกษา

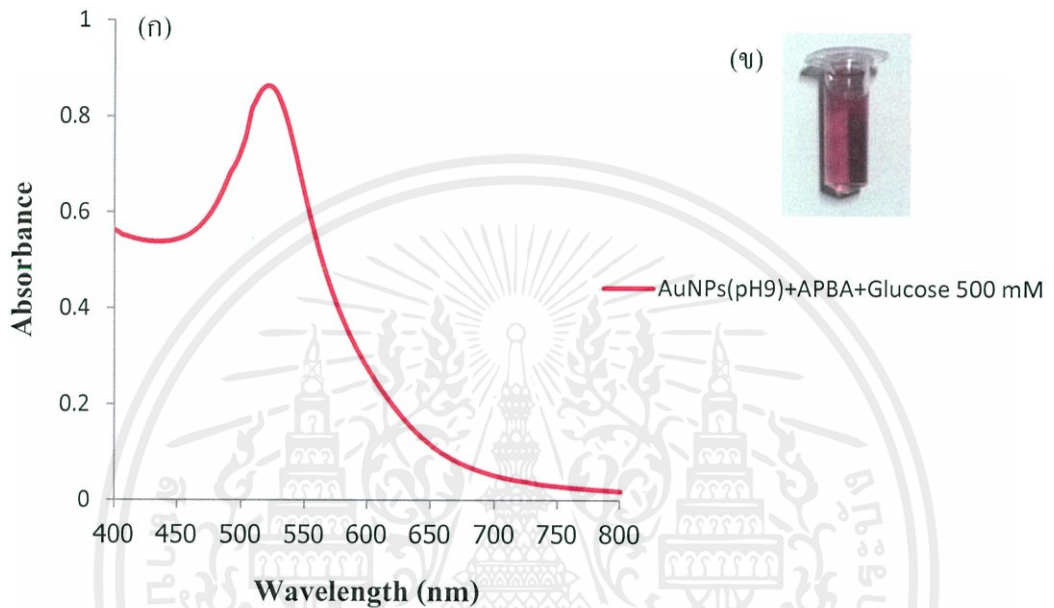


รูปที่ 4.4 (ก) สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองคำระดับนาโนที่ติดฟังก์ชัน APBA ความเข้มข้นสุดท้าย 1,5,10,20 และ 30 ไมโครโมลต่อลิตร หลังทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้น 500 มิลลิโมลต่อลิตร และ (ข) รูปถ่ายสารละลายทองคำนาโนที่ติดฟังก์ชันด้วย APBA ที่ความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.3 ศึกษาลำดับการเกิดปฏิกิริยา ที่ pH 9.0

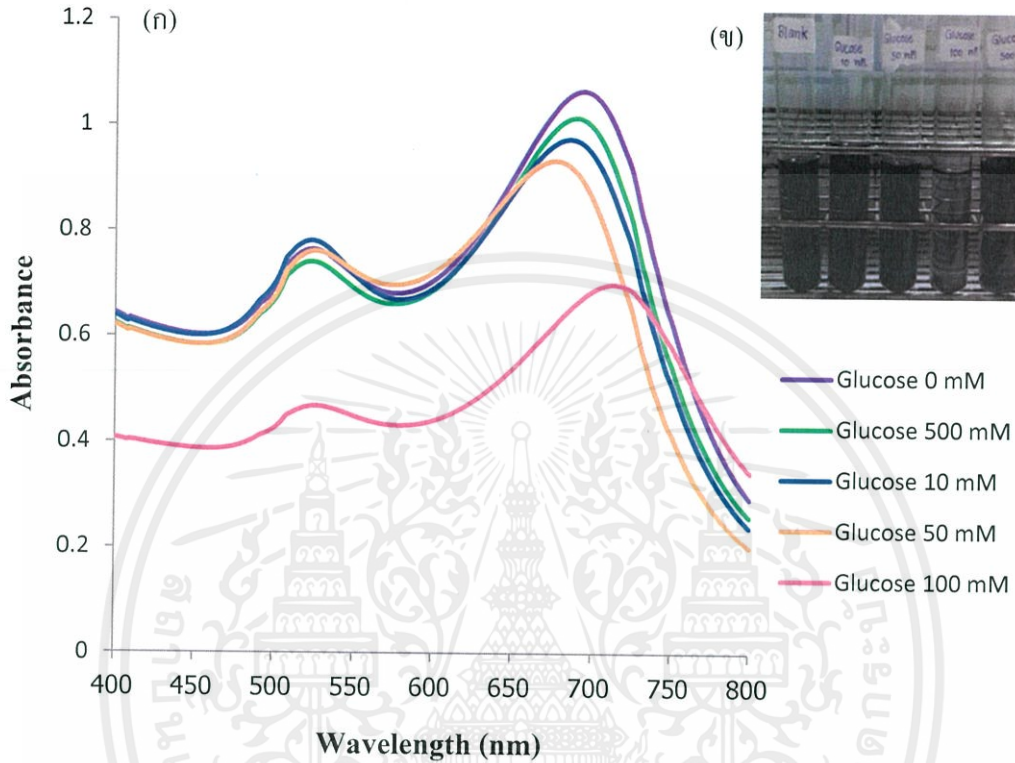
4.2.3.1 สารละลายอนุภาคทองระดับนาโนที่ปรับ pH เป็น 9.0 และ ติดฟังก์ชัน APBA แล้วนำไปทำปฏิกิริยากับสารละลายกลูโคส



รูปที่ 4.5 (ก) กราฟแสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนที่ปรับ pH เป็น 9.0 และ ติดฟังก์ชัน APBA ความเข้มข้นสุดท้าย 30 ไมโครโมลต่อลิตรหลังทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้น 500 มิลลิโมลต่อลิตร และ (ข) รูปถ่ายสารละลายของนาโนที่ปรับ pH เป็น 9.0 หลังทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้น 500 มิลลิโมลต่อลิตร

จากรูปที่ 4.5 (ก) พบว่าสเปกตรัมการดูดกลืนแสง และ (ข) สีของสารละลายของอนุภาคทองระดับนาโนที่ปรับ pH เป็น 9.0 ไม่มีการเปลี่ยนแปลง แสดงว่า pH ของอนุภาคทองระดับนาโนส่งผลต่อการทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานกลูโคส ดังนั้นจึงไม่เลือกสภาวะนี้มาใช้ในการทดลอง

4.2.3.2 สารละลายอนุภาคของระดับนาโนที่ติดฟังก์ชัน APBA ปรับ pH เป็น 9.0 แล้วนำไปทำปฏิกิริยากับสารละลายกลูโคส

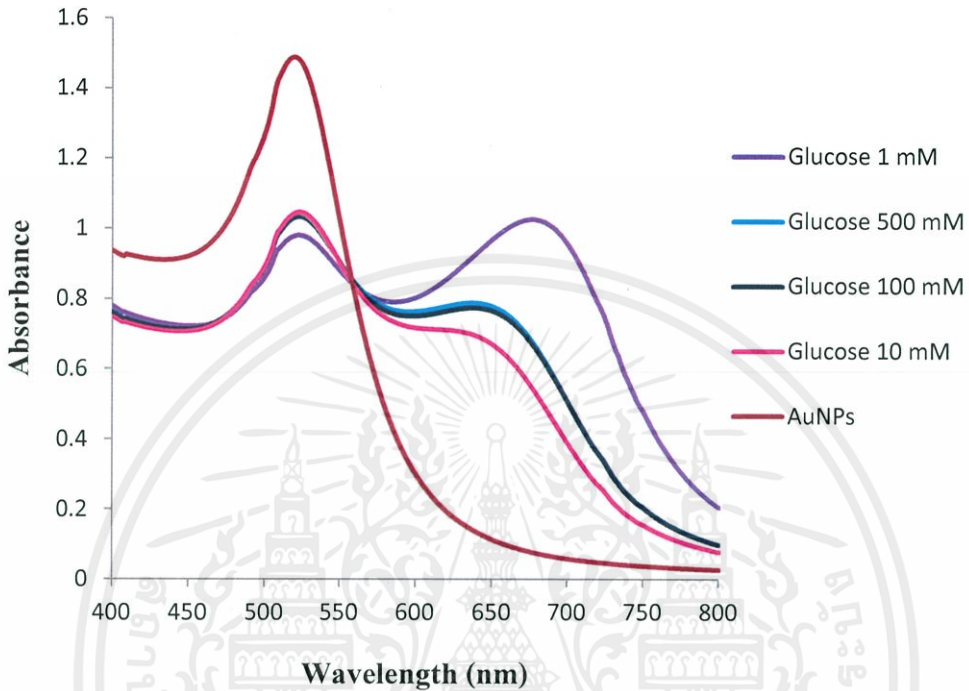


รูปที่ 4.6 (ก) กราฟแสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคของระดับนาโนที่ติดฟังก์ชัน APBA ความเข้มข้นสุดท้าย 30 ไมโครโมลต่อลิตรหลังทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้น 0,10,50,100 และ 500 มิลลิโมลต่อลิตร (ข) รูปถ่ายสารละลายทองคำนาโนหลังทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้นต่างๆ

จากรูปที่ 4.6 (ก) พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคของระดับนาโนที่ติดฟังก์ชัน APBA ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร มีค่าลดลง เมื่อความเข้มข้นของกลูโคสเพิ่มขึ้น แต่พบว่าที่กลูโคสความเข้มข้น 500 มิลลิโมลต่อลิตร มีค่าการดูดกลืนแสงที่ไม่เป็นไปตามแนวโน้มในข้างต้น ดังนั้นการปรับ pH ของสารละลายทองคำนาโนที่ติดฟังก์ชันด้วย APBA ก่อนนำไปทำปฏิกิริยากับกลูโคส จึงอาจไม่ใช่ลำดับการทำปฏิกิริยาที่เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.3.3 สารละลายอนุภาคทองระดับนาโนที่นำไปทำปฏิกิริยากับ APBA pH 9.0 และ สารละลายกลูโคส

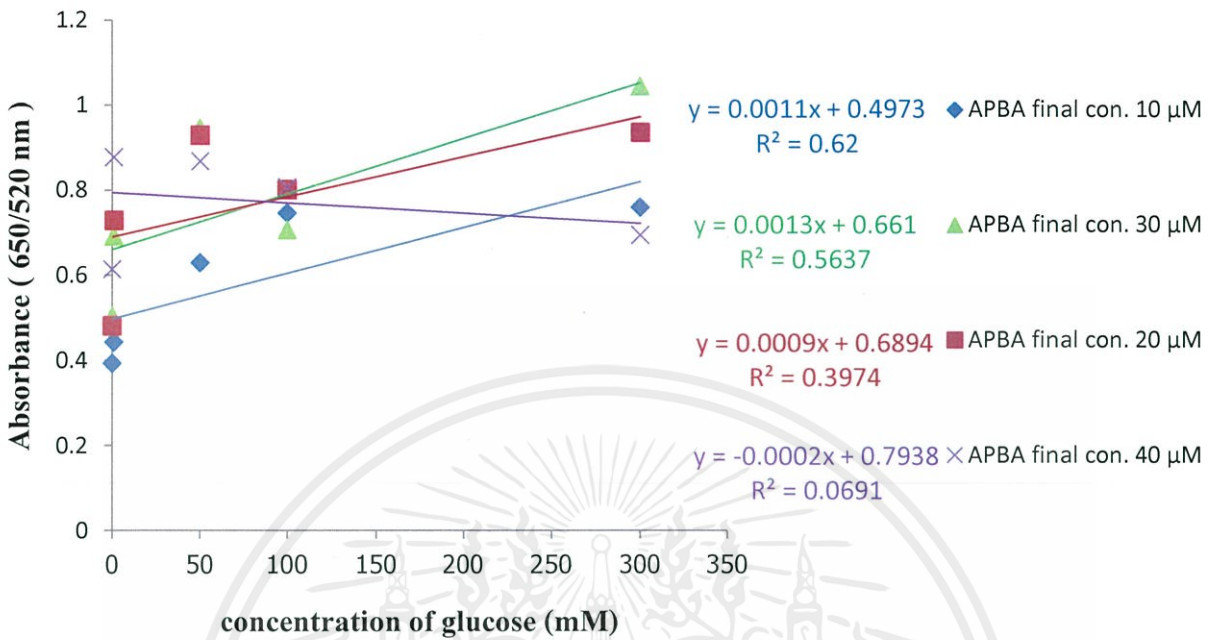


รูปที่ 4.7 กราฟแสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนที่ทำปฏิกิริยากับ APBA pH 9.0 และ สารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้น 1,10,100 และ 500 มิลลิโมลต่อลิตร

จากการศึกษาลำดับการทำปฏิกิริยาที่ pH 9.0 พบว่า สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนที่ทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ ไม่มีแนวโน้มเป็นไปตามงานวิจัยที่อ้างอิง โดยค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร จะต้องลดลงตามความเข้มข้นของกลูโคสที่เพิ่มขึ้น ซึ่งจากงานวิจัยที่อ้างอิงนั้น สามารถทำการศึกษได้ 2 สภาวะ คือ pH 9.0 และ pH 6.0 ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาลำดับการเกิดปฏิกิริยาที่ pH 6.0 โดยทำการเติมกลูโคสที่ความเข้มข้น 1, 10, 50 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตรตามลำดับ และนำมาทำปฏิกิริยากับ APBA ก่อนที่จะนำมาผสมกับอนุภาคทองระดับนาโนที่ปริมาตรที่เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.4 ศึกษาความเข้มข้นของ APBA ที่เหมาะสม ที่ pH 6.0

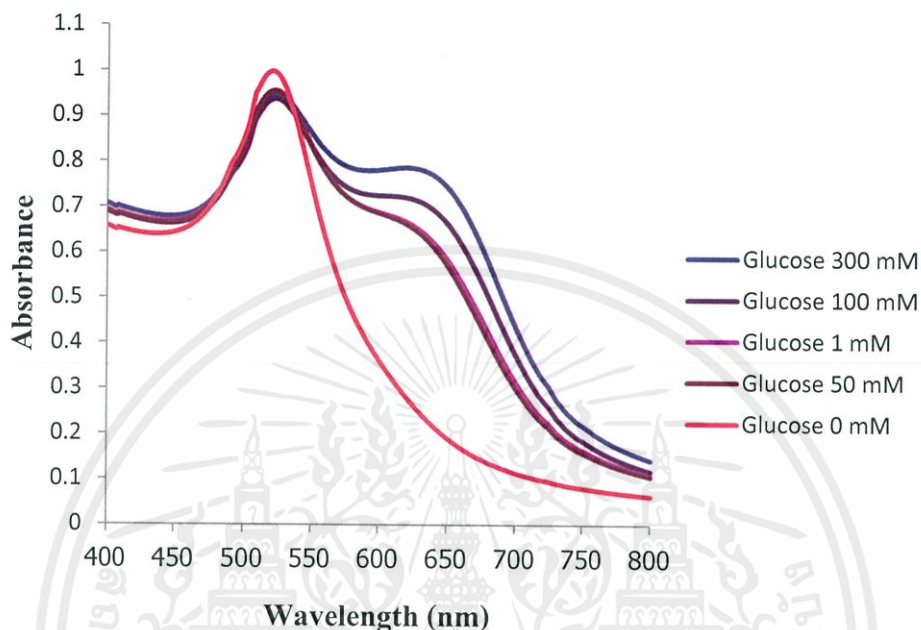


รูปที่ 4.8 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง กับความเข้มข้นของ กลูโคส ที่ความเข้มข้นสุดท้ายของ APBA เท่ากับ 10, 20, 30 และ 40 ไมโครโมลต่อลิตร

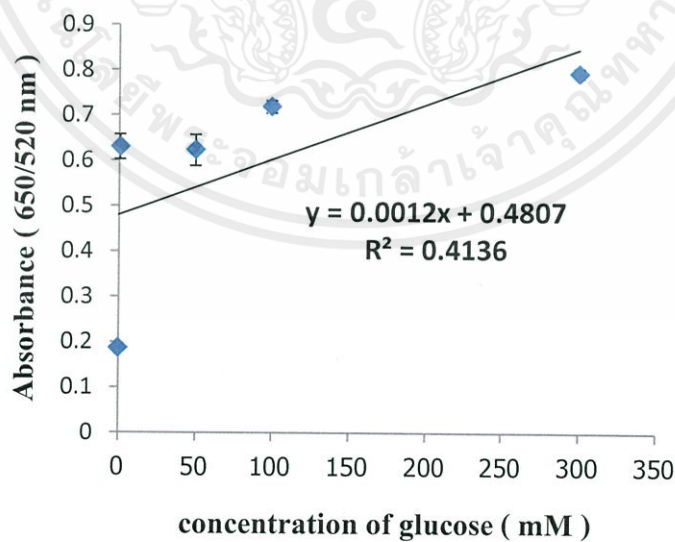
จากการศึกษาความเข้มข้นของ APBA ที่ pH 6.0 เพื่อหาความเข้มข้นของ APBA ที่เหมาะสม ในการทำปฏิกิริยากับกลูโคส ได้ทำการศึกษาความเข้มข้นสุดท้ายของ APBA ที่ 10, 20, 30 และ 40 ไมโครโมลต่อลิตร ซึ่งจากกราฟพบว่า ความเข้มข้นสุดท้ายของ APBA ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครโมล ต่อลิตร ให้ค่าความเป็นเส้นตรงที่ดีที่สุด จึงได้เลือกใช้ APBA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลต่อลิตรในการศึกษาต่อไป

4.2.5 ศึกษาลำดับการเกิดปฏิกิริยา ที่ pH 6.0

4.2.5.1 สารละลายอนุภาคทองระดับนาโนที่ติดฟังก์ชัน APBA แล้วนำไปทำปฏิกิริยากับสารละลายกลูโคส



รูปที่ 4.9 กราฟแสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนที่ติดฟังก์ชัน APBA ความเข้มข้นสุดท้าย 10 ไมโครโมลต่อลิตรหลังทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้น 0,10,50,100 และ 500 มิลลิโมลต่อลิตร

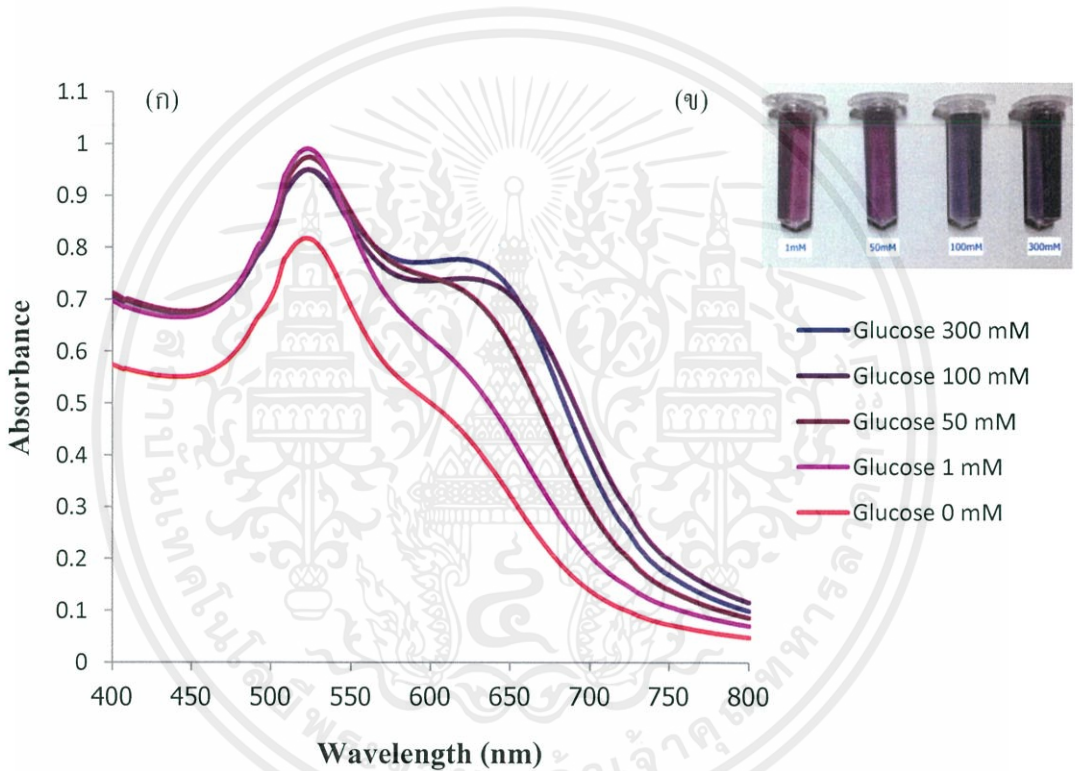


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

รูปที่ 4.10 กราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตร) กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร

จากรูปที่ 4.9 พบว่าสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนที่ทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่ pH 6 มีแนวโน้มความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้น โดยค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร มีค่าเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของกลูโคส แต่ไม่เป็นลำดับ และ เมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงมาสร้างกราฟมาตรฐาน ดังรูปที่ 4.10 จะได้ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสีนใจ (R^2) เท่ากับ 0.4136 ซึ่งเป็นค่าที่ต่ำ แสดงว่าลำดับการทำปฏิกิริยานี้อาจยังไม่เหมาะสม ดังนั้นเราจึงทำการทดลองที่ลำดับถัดไป

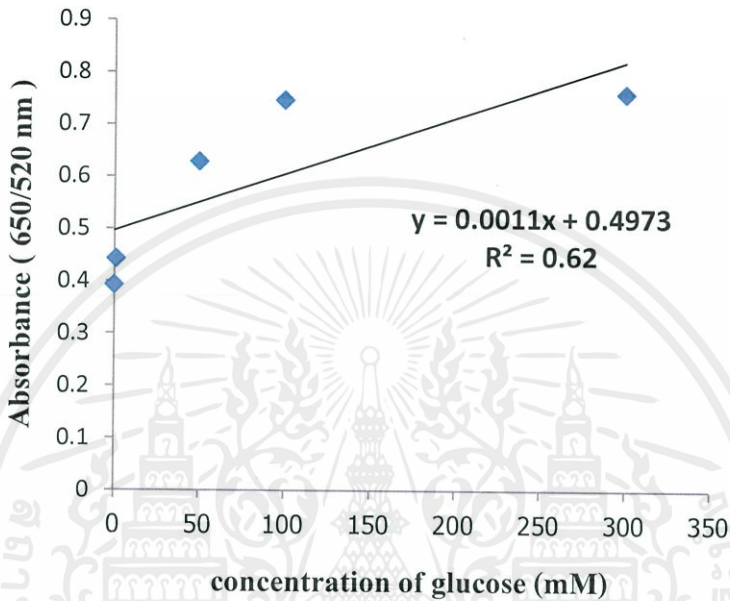
4.2.5.2 สารละลายอนุภาคทองระดับนาโนที่นำไปทำปฏิกิริยากับ APBA pH 6.0 และสารละลายกลูโคส



รูปที่ 4.11 (ก) กราฟแสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนที่ทำปฏิกิริยากับ APBA pH 6 และ สารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้น 0, 1, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร และ (ข) รูปถ่ายสารละลายของนาโนหลังจากทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.11 (ก) พบว่าสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนที่ทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่ pH 6 มีแนวโน้มความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้น โดยค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร มีค่าเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของกลูโคสที่เพิ่มขึ้น และสามารถเห็นการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายได้



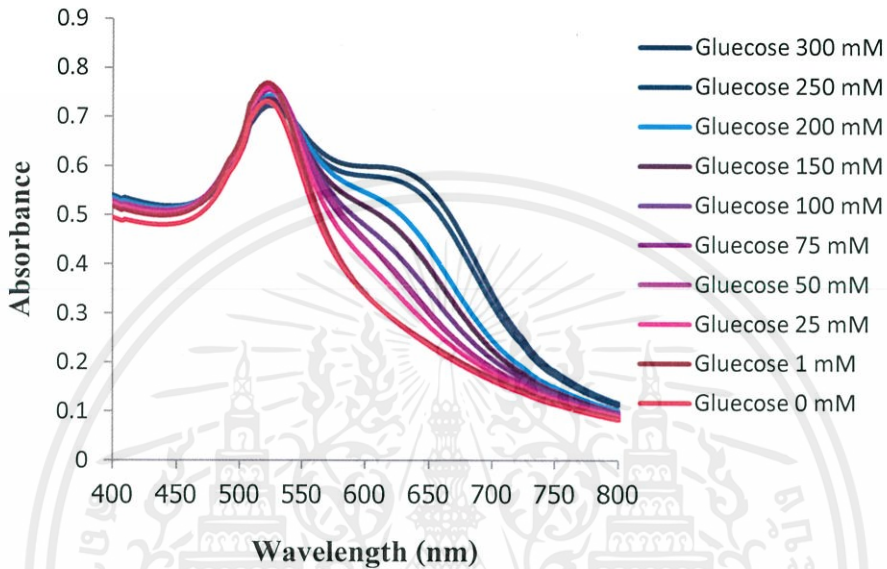
รูปที่ 4.12 กราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตร) กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร

จากรูปที่ 4.12 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ทำการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Visible spectrometer ได้สมการเส้นตรง $y = 0.0011x + 0.4973$ และค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) มีค่าเท่ากับ 0.62

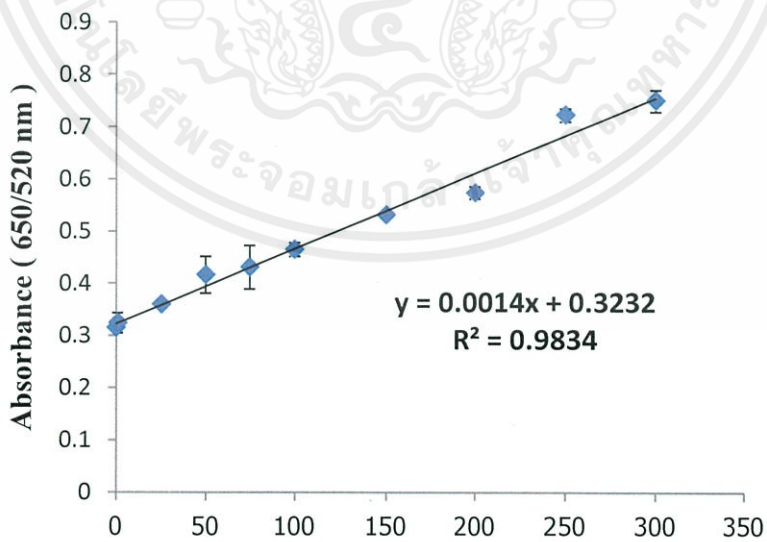
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ศึกษาคุณลักษณะของวิธีวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer

4.3.1 ศึกษาความเป็นเส้นตรง (Linearity)



รูปที่ 4.13 กราฟแสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนที่ทำปฏิกิริยากับ APBA pH 6 และ สารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้น 0-500 มิลลิโมลต่อลิตร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการ **concentration of glucose (mM)** ตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น ผู้กทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
รูปที่ 4.14 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน
กลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆที่ตรวจวัดด้วยเครื่อง UV-Visible spectrometer

จากรูปที่ 4.14 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ทำการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Visible spectrometer ได้สมการเส้นตรง $y = 0.0014x + 0.3232$ และค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) มีค่าเท่ากับ 0.9834 ซึ่งเป็นค่าที่ยอมรับได้

4.3.2 ศึกษาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ

ในการหาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่และปัสสาวะ ที่เติมสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้นสุดท้าย 50 และ 150 มิลลิโมลต่อลิตรตามลำดับลงไป จากนั้นคำนวณหาความเข้มข้นของตัวอย่างที่มีการเติมสารละลายมาตรฐาน และ ค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ ซึ่งแสดงในตารางที่ 4.1 และ 4.2

ตารางที่ 4.1 แสดงค่าร้อยละของการคืนกลับได้ (%Recovery) ในการหาปริมาณกลูโคสในตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่ ด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer

ตัวอย่าง เครื่องดื่ม เกลือแร่	ความ เข้มข้นของ กลูโคสที่ พบใน ตัวอย่าง (mM)	ความ เข้มข้นของ สารละลาย มาตรฐาน กลูโคสที่ เติม (mM)	ความเข้มข้นที่ตรวจพบ (mM)		ความ เข้มข้น เฉลี่ย (mM)	%Recovery
			ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2		
1	120.30	50	130.12	151.36	140.74	30.49
2	126.10	50	189.15	172.41	180.78	81.58
3	138.87	50	157.65	167.03	162.34	35.01

จากตารางที่ 4.1 จะเห็นได้ว่าค่าร้อยละคืนกลับที่แสดงวิธีการคำนวณไว้ในภาคผนวก ค อยู่ในช่วง 30 – 80 % นั่นคือ วิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นนี้ถูกรบกวนจากองค์ประกอบภายในตัวอย่าง จึงถือได้ว่าวิธีวิเคราะห์นี้มีความแม่นยำ

ตารางที่ 4.2 แสดงค่าร้อยละของการคืนกลับได้ (%Recovery) ในการหาปริมาณกลูโคสในตัวอย่างปัสสาวะ ด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer

ตัวอย่างปัสสาวะ	ความเข้มข้นของกลูโคสที่พบในตัวอย่าง (mM)	ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่เติม (mM)	ความเข้มข้นที่ตรวจพบ (mM)		ความเข้มข้นเฉลี่ย (MM)	%Recovery
			ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2		
1	N.D.*	150	N.D.*	N.D.*	N.D.*	-
2	N.D.*	150	N.D.*	N.D.*	N.D.*	-
3	N.D.*	150	N.D.*	N.D.*	N.D.*	-

หมายเหตุ *N.D. คือ ไม่สามารถตรวจวัดได้

จากตารางที่ 4.2 จะพบว่าไม่สามารถตรวจวัดปริมาณกลูโคสในตัวอย่างปัสสาวะได้ จึงทำให้หาค่าร้อยละคืนกลับไม่ได้ เนื่องจากในตัวอย่างปัสสาวะอาจมีเมทริกซ์ที่รบกวนการวิเคราะห์

4.3.3 ศึกษาความเที่ยง

ในการหาความเที่ยงของวิธี จะพิจารณาจากค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ โดยทำการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานกลูโคส ที่ความเข้มข้น 150 มิลลิโมลต่อลิตร ซ้ำๆเป็นจำนวน 4 ครั้ง จากนั้นหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ พบว่าค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์มีค่าเท่ากับ 3.08 ซึ่งน้อยกว่าร้อยละ 5 ดังนั้น จึงถือได้ว่าวิธีนี้มีความเที่ยงสูง

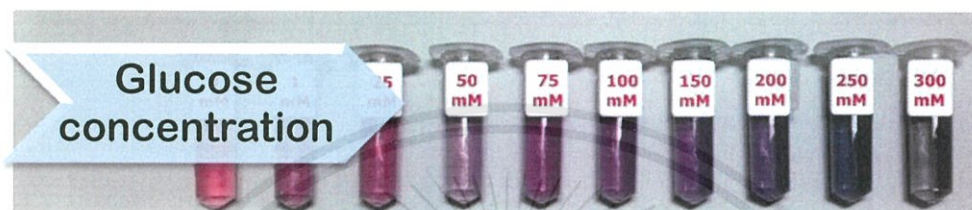
จากที่ได้คุณลักษณะเด่นของวิธีวิเคราะห์ดังกล่าวมาแล้วข้างต้น สามารถสรุปผลการศึกษาดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 สรุปคุณลักษณะเด่นของวิธีวิเคราะห์ในการวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer

คุณลักษณะเด่น	ค่าที่ได้
ช่วงความเป็นเส้นตรง (มิลลิโมลต่อลิตร)	0 – 300
สมการเส้นตรง	$y = 0.0014x + 0.3232$
สัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2)	0.9834
ร้อยละของการคืนกลับ (%Recovery)	30 – 80
ความเที่ยง (%RSD) $n = 4$	3.08
ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดด้วยตาเปล่า (มิลลิโมลต่อลิตร)	1

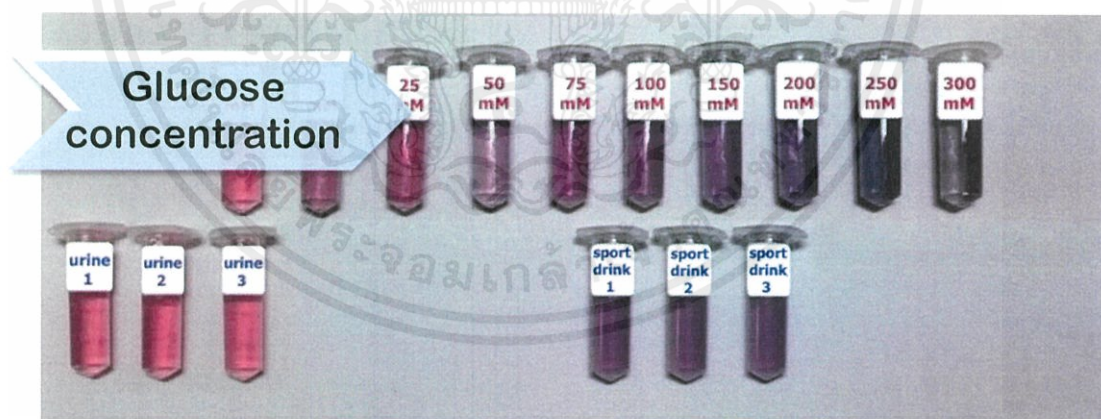
4.3.4 ศักยภาพจำกัดของการตรวจวัดด้วยตาเปล่า

ค่า LOD ศึกษาโดยการนำอนุภาคของระดับนาโนมาทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 1 – 300 มิลลิโมลต่อลิตร ทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง เพื่อใช้เป็นสารละลายชุดมาตรฐานไว้เทียบสีในการประเมินหาปริมาณกลูโคส โดยจากรูปที่ 4.15 จะพบว่าเริ่มเกิดการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายตั้งแต่ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลต่อลิตร ดังนั้นวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้มีขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดด้วยตาเปล่า คือ 1 มิลลิโมลต่อลิตรของกลูโคส



รูปที่ 4.15 รูปถ่ายสารละลาย เมื่อใช้อนุภาคของระดับนาโนทำปฏิกิริยากับ APBA pH 6 และ สารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ

4.4 ทดสอบความถูกต้องของการประเมินระดับความเข้มข้นของกลูโคสด้วยตาเปล่า เทียบกับระดับความเข้มข้นที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer



รูปที่ 4.16 รูปถ่ายสารละลายของนาโนหลังทำปฏิกิริยากับสารละลายตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่ และ ปัสสาวะ เทียบสีกับสารละลายชุดมาตรฐาน

จากรูปที่ 4.12 แสดงสีของอนุภาคของระดับนาโนทำปฏิกิริยากับสารละลายตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่ และ ปัสสาวะ เทียบกับสีของสารละลายชุดมาตรฐานที่ได้จากกราฟเส้นตรง พบว่าตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่ชนิดที่ 1, 2 และ 3 มีสีอยู่ในช่วงความเข้มข้น 100 – 150 มิลลิโมลต่อลิตร ส่วนตัวอย่างปัสสาวะ (Sample 1 – 3) มีสีอยู่ในช่วงความเข้มข้นต่ำกว่า 1 มิลลิโมลต่อลิตร

ตารางที่ 4.4 แสดงผลการทดลองในการหาปริมาณกลูโคสในตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่ และ ปัสสาวะ ด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer และ ด้วยตาเปล่า

ตัวอย่าง	ระดับความเข้มข้นที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer (mM)	ระดับความเข้มข้นที่วิเคราะห์ด้วยตาเปล่า (mM)
Sport drink 1	120.30	100 - 125
Sport drink 2	126.10	100 - 125
Sport drink 3	138.87	100 - 125
Urine 1	N.D. *	< 1
Urine 2	N.D. *	< 1
Urine 3	N.D. *	< 1

หมายเหตุ *N.D. คือ ไม่สามารถตรวจวัดได้

จากตารางที่ 4.4 จะเห็นได้ว่าระดับความเข้มข้นที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยตาเปล่า เทียบกับเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer มีค่าใกล้เคียงกัน ดังนั้นวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้มีแนวโน้มที่จะนำไปประยุกต์ใช้ประเมินความเข้มข้นของกลูโคสในเบื้องต้น สำหรับเครื่องดื่มเกลือแร่ และ การตรวจวินิจฉัยโรคเบาหวานในปัสสาวะได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

5.1.1 ในงานวิจัยนี้ได้วิเคราะห์ปริมาณกลูโคสในปัสสาวะ โดยอาศัยปฏิกิริยาการรวมตัวของอนุภาคทองคำนาโนที่ติดหมู่ฟังก์ชันด้วย 3-aminophenylboronic acid (APBA) ในสภาวะที่มีกลูโคส ซึ่งทำให้สีของสารละลายเข้มข้นจากสีแดงจนกลายเป็นสีน้ำเงิน แล้วนำไปเทียบสีกับชุดมาตรฐานเพื่อประเมินความเข้มข้นของกลูโคสด้วยตาเปล่า พบว่าได้สภาวะที่เหมาะสม ดังต่อไปนี้

- (1) ปริมาตรสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนที่ใช้ เท่ากับ 8 มิลลิลิตร
- (2) ความเข้มข้น APBA สุดท้าย เท่ากับ 10 ไมโครโมลต่อลิตร
- (3) ใช้ลำดับการทำปฏิกิริยาที่ pH 6.0

5.1.2 ผลจากการประเมินคุณลักษณะเด่นของวิธี เป็นดังนี้

- (1) ช่วงความเป็นเส้นตรง เท่ากับ 0 – 300 มิลลิโมลต่อลิตรของกลูโคส
- (2) สัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.9834
- (3) ร้อยละของการคืนกลับ (%Recovery) เท่ากับ 30 – 80 %
- (4) ความเที่ยง (%RSD) เท่ากับ 3.08
- (5) ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดด้วยตาเปล่า เท่ากับ 1 มิลลิโมลต่อลิตรของกลูโคส

5.1.3 เมื่อพัฒนาวิธีได้แล้ว จึงนำมาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสในปัสสาวะ พบว่า สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์สำหรับการตรวจวินิจฉัยโรคเบาหวานเบื้องต้นได้อย่างมีประสิทธิภาพ

5.1.4 วิธีที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้สะดวก รวดเร็ว สามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่า นอกจากนี้ยังไม่ต้องใช้เอนไซม์ในการตรวจวัด

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. อนุภาคทองระดับนาโนที่สังเคราะห์ขึ้น ควรเก็บรักษาไว้ในที่มืดและเย็น เพื่อป้องกันแสงและการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ ที่อาจส่งผลให้ค่าการดูดกลืนแสงเปลี่ยนแปลงไป
2. ควรศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องของการกำจัดเมทริกซ์ในตัวอย่างที่รบกวนต่อการวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ภายในห้องปฏิบัติการเท่านั้น ไม่ควรเผยแพร่ไปนอกระบบงานวิจัย หรือใช้เพื่อการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

[1] <http://th.wikipedia.org/wiki/%E0%B8%81%E0%B8%A5%E0%B8%B9%E0%B9%82%E0%B8%84%E0%B8%AA> (กรกฎาคม 2557).

[2] <http://frynn.com/%E0%B8%99%E0%B9%89%E0%B8%B3%E0%B8%95%E0%B8%B2%E0%B8%A5/> (กรกฎาคม 2557).

[3] <http://th.wikipedia.org/wiki/%E0%B9%80%E0%B8%9A%E0%B8%B2%E0%B8%AB%E0%B8%A7%E0%B8%B2%E0%B8%99> (กรกฎาคม 2557).

[4] <http://thaidiabetes.blogspot.com/?m=1> (กรกฎาคม 2557).

[5] http://scijournal.kku.ac.th/files/Vol_41_No_4_P_859-872.pdf (สิงหาคม 2557).

[6] http://archive.lib.cmu.ac.th/full/T/2552/aphys0852pp_ch2.pdf (สิงหาคม 2557).

[7] http://web.eng.nu.ac.th/eng2012/ceri/nanodatabase/info2.php?cat_id=9&p_id=258 (สิงหาคม 2557).

[8] <http://www.chimica.unipd.it/fabrizio.mancin/pubblica/Nanobiotech/VII%20lezione.pdf> (สิงหาคม 2557).

[9] Y.-P. Li., L. Jiang., T. Zhang., M. Lin., D.-B. Tian and H. Huang. 2014. Colorimetric detection of glucose using a boronic acid derivative receptor attached to unmodified AuNPs. *Chinese Chemical Letters*. 25: 77-79.

[10] G. Palazzo., L. Facchini and A. Mallardi. 2012. Colorimetric detection of sugars based on gold nanoparticle formation. *Sensors and Actuators B*. 161: 366-371.

[11] K.R. Lim., J.-M. Park., H.N. Choi and W.-Y. Lee. 2013. Gold glyconanoparticle-based colorimetric bioassay for the determination of glucose in human serum. *Microchemical Journal*. 106: 154-159.

[12] Y. Ma., N. Li., C. Yang and X. Yang. 2005. One-step synthesis of water-soluble gold nanoparticles/polyaniline composite and its application in glucose sensing. *Colloids and Surfaces A*. 269: 1-6.

- [13] X. Chen., J. Chen., F. Wang., X. Xiang., M. Luo., Xi. Ji and Z. He. 2012. Determination of glucose and uric acid with bienzyme colorimetry on microfluidic paper-based analysis devices. **Biosensors and Bioelectronics**. 35: 363-368.
- [14] H.J. Chun., Y.M. Park., Y.D. Han., Y.H. Jang and H.C. Yoon. 2014. Paper-based Glucose Biosensing System Utilizing a Smartphone as a Signal Reader. **BioChip J**. 8: 218-226.
- [15] N.J. Lang., B. Liu and J. Liu. 2014. Characterization of glucose oxidation by gold nanoparticles using nanoceria. **Journal of Colloid and Interface Science**. 428: 78-83.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ก.1 คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า

คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (Electromagnetic Radiation (EM radiation หรือ EMR)) เป็นคลื่นชนิดหนึ่งที่ไม่ต้องใช้ตัวกลางในการเคลื่อนที่ เช่น คลื่นวิทยุ (Radio waves) คลื่นไมโครเวฟ (Microwaves) ปัจจุบันมีการใช้คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าในหลาย ๆ ด้าน เช่น การติดต่อสื่อสาร (มือถือ โทรศัพท์ วิทยุ เรดาร์ โยแกว่นาแสง) ทางการแพทย์ (รังสีเอกซ์) การทำอาหาร (คลื่นไมโครเวฟ) การควบคุมรีโมท (รังสีอินฟราเรด)

- คุณสมบัติของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า คือ เป็นคลื่นที่เกิดจากคลื่นไฟฟ้าและคลื่นแม่เหล็กตั้งฉากกันและเคลื่อนที่ไปยังทิศทางเดียวกัน คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าสามารถเดินทางได้ด้วยความเร็ว 299,792,458 เมตร/วินาที หรือเทียบเท่ากับความเร็วแสง
- คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า เกิดจากการรบกวนทางแม่เหล็กไฟฟ้า (Electromagnetic disturbance) โดยการทำให้สนามไฟฟ้าหรือสนามแม่เหล็กมีการเปลี่ยนแปลง เมื่อสนามไฟฟ้ามีการเปลี่ยนแปลงจะเหนี่ยวนำให้เกิดสนามแม่เหล็ก หรือถ้าสนามแม่เหล็กมีการเปลี่ยนแปลงก็จะเหนี่ยวนำให้เกิดสนามไฟฟ้า
- คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าเป็นคลื่นตามขวาง ประกอบด้วยสนามไฟฟ้าและสนามแม่เหล็กที่มีการสั่นในแนวตั้งฉากกัน และอยู่บนระนาบตั้งฉากกับทิศการเคลื่อนที่ของคลื่น คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าเป็นคลื่นที่เคลื่อนที่โดยไม่อาศัยตัวกลาง จึงสามารถเคลื่อนที่ในสุญญากาศได้
- สเปกตรัม (Spectrum) ของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าจะประกอบด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความถี่และความยาวคลื่นแตกต่างกัน ซึ่งครอบคลุมตั้งแต่ คลื่นแสงที่ตามองเห็น อัลตราไวโอเล็ต อินฟราเรด คลื่นวิทยุ โทรศัพท์ ไมโครเวฟ รังสีเอกซ์ รังสีแกมมา เป็นต้น ดังนั้นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า จึงมีประโยชน์มากในการสื่อสารและโทรคมนาคม และทางการแพทย์

สมบัติของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า

1. ไม่ต้องใช้ตัวกลางในการเคลื่อนที่
2. อัตราเร็วของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าทุกชนิดในสุญญากาศเท่ากับ 3×10^8 m/s ซึ่งเท่ากับอัตราเร็วของแสง
3. เป็นคลื่นตามขวาง
4. ถ่ายเทพลังงานจากที่หนึ่งไปอีกที่หนึ่ง
5. ถูกปล่อยออกมาและถูกดูดกลืนได้โดยสสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับบริการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใด ๆ 16. ไม่มีประจุไฟฟ้า

7. คลื่นสามารถแทรกสอด สะท้อน หักเห และเลี้ยวเบนได้

ก.2 คลื่นแสง

แสง คือ การแผ่รังสีแม่เหล็กไฟฟ้าในช่วงความยาวคลื่นที่สายตามนุษย์มองเห็น หรือบางครั้งอาจรวมถึงการแผ่รังสีแม่เหล็กไฟฟ้าในช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่รังสีอินฟราเรดถึงรังสีอัลตราไวโอเล็ตด้วย สมบัติพื้นฐานของแสง (และของการแผ่รังสีแม่เหล็กไฟฟ้าทุกช่วงคลื่น) ได้แก่ ความเข้ม (ความสว่างหรือแอมพลิจูด ซึ่งปรากฏแก่สายตามนุษย์ในรูปความสว่างของแสง) ความถี่ (หรือความยาวคลื่น ซึ่งปรากฏแก่สายตามนุษย์ในรูปสีของแสง) และ โพลาริเซชัน (มุมการสั่นของคลื่น ซึ่งโดยปกติมนุษย์ไม่สามารถรับรู้ได้) แสงจะแสดงคุณสมบัติทั้งของคลื่นและของอนุภาคในเวลาเดียวกัน ทั้งนี้เนื่องจากทวิภาวะของคลื่นและอนุภาค ธรรมชาติที่แท้จริงของแสงเป็นปัญหาหลักปัญหาหนึ่งของฟิสิกส์สมัยใหม่

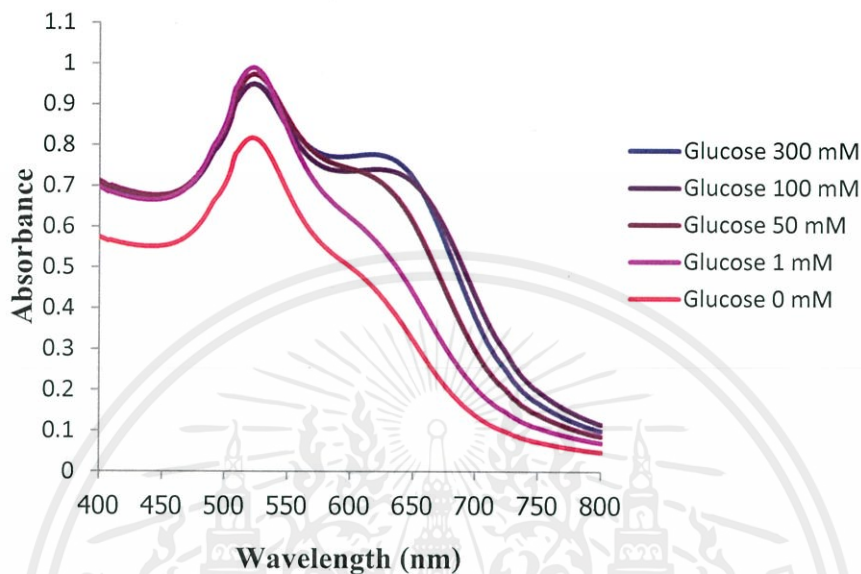
แสงมีคุณสมบัติทวิภาวะ กล่าวคือ

1. แสงเป็นคลื่น : แสงเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า โดยที่ระนาบการสั่นของสนามแม่เหล็กตั้งฉากกับระนาบการสั่นของสนามไฟฟ้า และตั้งฉากกับทิศทางการเคลื่อนที่ของคลื่น และแสงก็มีการเลี้ยวเบนด้วย ซึ่งการเลี้ยวเบนก็แสดงคุณสมบัติของคลื่น
2. แสงเป็นอนุภาค : แสงเป็นก้อนพลังงานมีค่าพลังงาน $E = hf$ โดยที่ h คือค่าคงตัวของพลังค์ และ f คือความถี่ของแสง เรียกอนุภาคแสงว่าโฟตอน

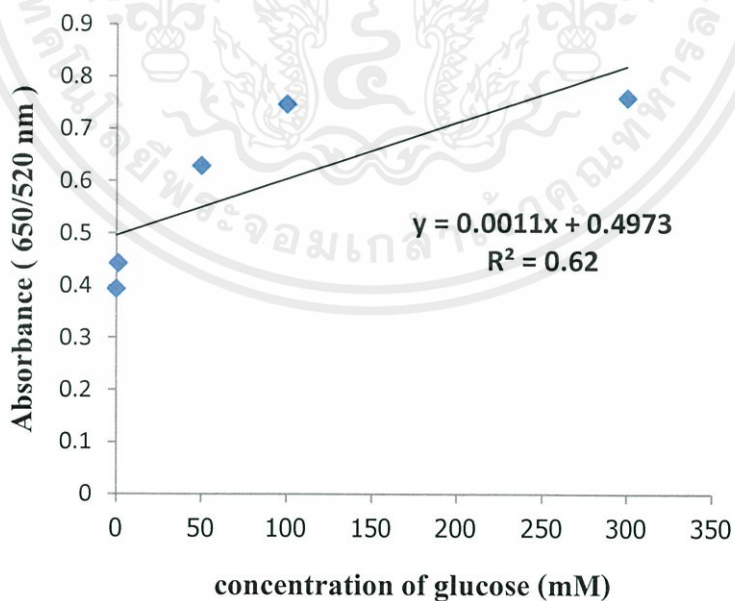
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

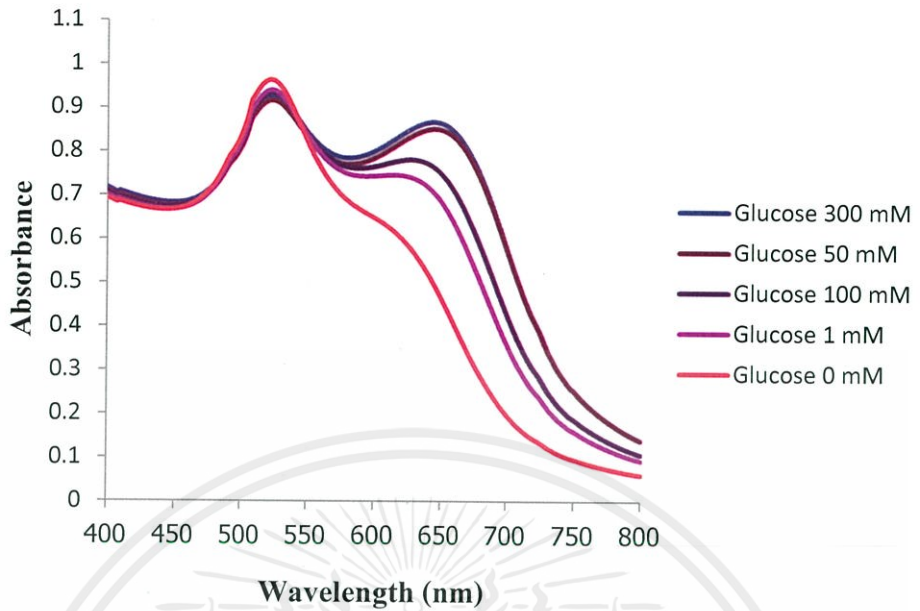
ข. ศึกษาความเข้มข้นของ APBA ที่เหมาะสมที่ pH 6.0



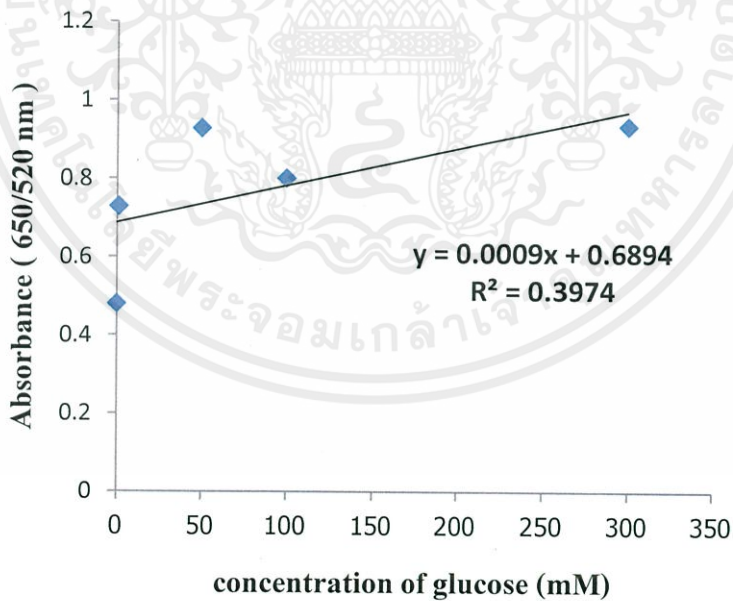
รูปที่ ข.1 กราฟแสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนที่ทำปฏิกิริยากับ APBA ความเข้มข้นสุดท้าย 10 ไมโครโมลต่อลิตร และ สารละลายมาตรฐานกลูโคส ความเข้มข้นต่างๆ



รูปที่ ข.2 กราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตร) ของอนุภาคทองระดับนาโนที่ APBA ความเข้มข้นสุดท้าย 10 ไมโครโมลต่อลิตร กับ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้นต่าง



รูปที่ ข.3 กราฟแสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคของระดับนาโนที่ทำปฏิกิริยากับ APBA ความเข้มข้นสุดท้าย 20 ไมโครโมลต่อลิตร และ สารละลายมาตรฐานกลูโคส ความเข้มข้นต่างๆ

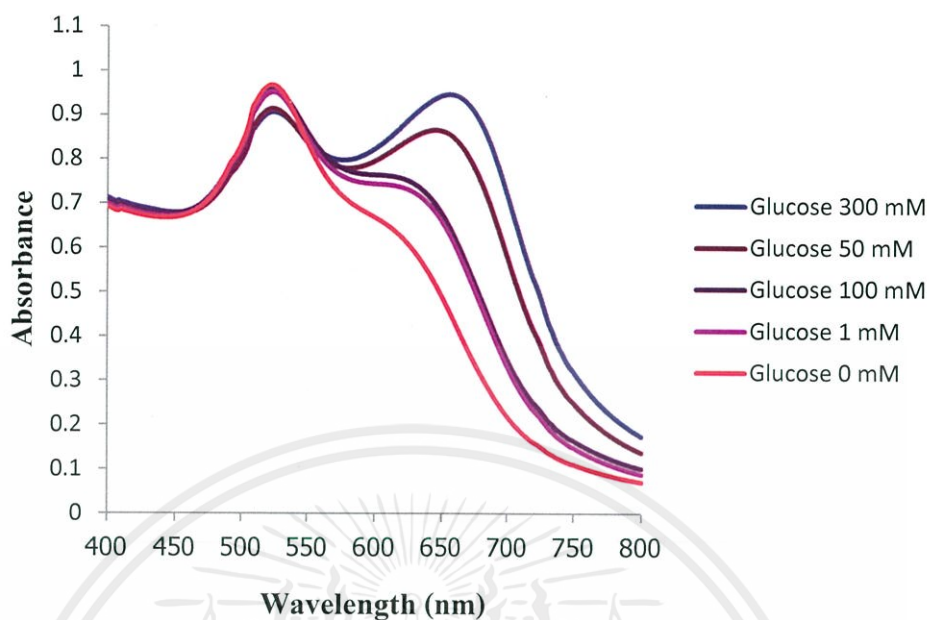


รูปที่ ข.4 กราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 650/520 นา

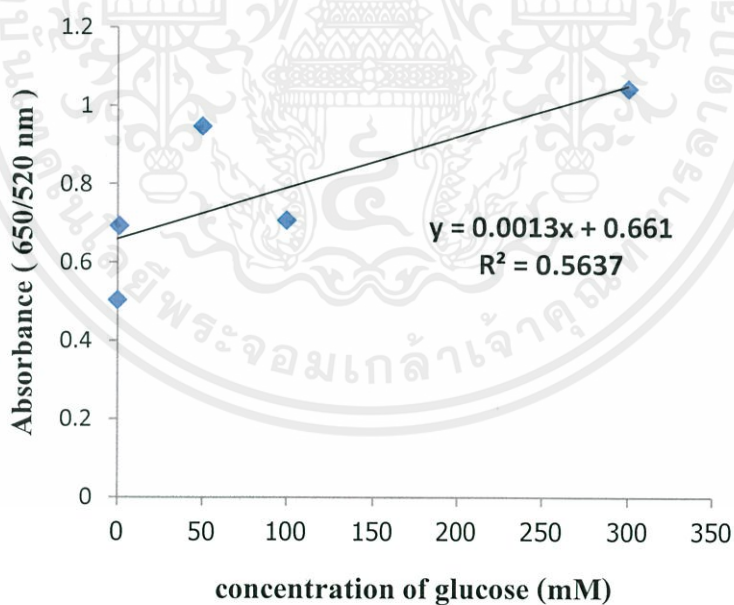
โนเมตร) ของอนุภาคของระดับนาโนที่ APBA ความเข้มข้นสุดท้าย 20 ไมโครโมลต่อลิตร กับ

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีเหตุผลเบื้องหลังเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

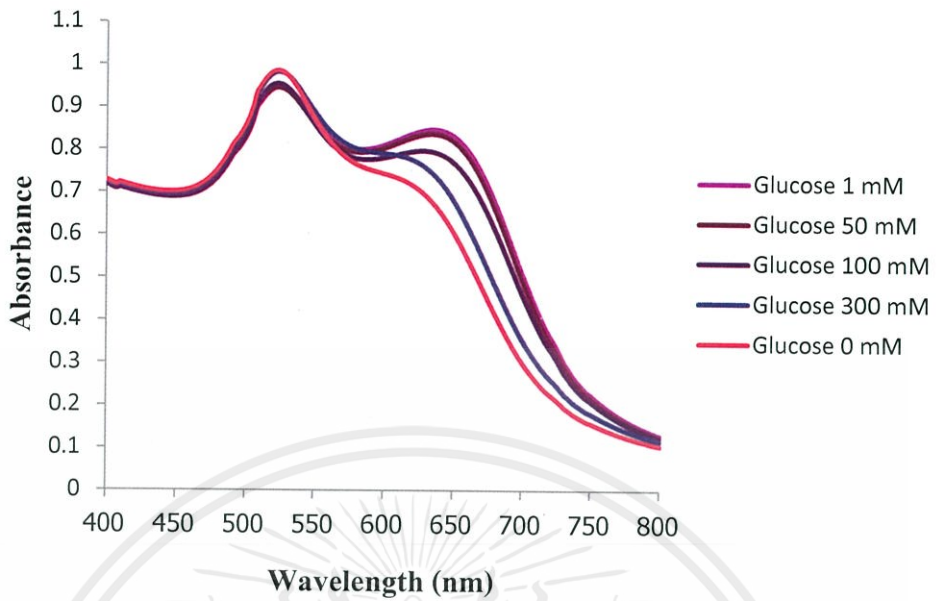


รูปที่ ข.5 กราฟแสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนที่ทำปฏิกิริยากับ APBA ความเข้มข้นสุดท้าย 30 ไมโครโมลต่อลิตร และ สารละลายมาตรฐานกลูโคส ความเข้มข้นต่างๆ

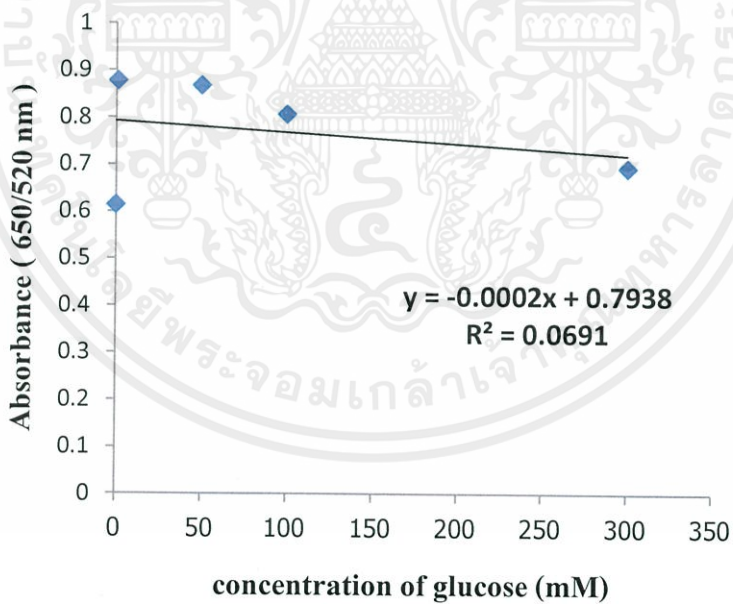


รูปที่ ข.6 กราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตร) ของอนุภาคทองระดับนาโนที่ APBA ความเข้มข้นสุดท้าย 30 ไมโครโมลต่อลิตร กับ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี การนำข้อมูลไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข.7 กราฟแสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนที่ทำปฏิกิริยากับ APBA ความเข้มข้นสุดท้าย 40 ไมโครโมลต่อลิตร และ สารละลายมาตรฐานกลูโคส ความเข้มข้นต่างๆ



รูปที่ ข.8 กราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตร) ของอนุภาคทองระดับนาโนที่ APBA ความเข้มข้นสุดท้าย 40 ไมโครโมลต่อลิตร กับ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น มิได้อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

ค. ศึกษาคุณลักษณะของวิธีวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer

ตารางที่ ค.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงในการศึกษาความเป็นเส้นตรง

ความเข้มข้น กลูโคส (mM)	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 1	ค่าเฉลี่ย	SD	% RSD
0	0.3198	0.3123	0.3160	0.0053	1.68
1	0.3105	0.3382	0.3244	0.0196	6.04
25	0.3607	0.3609	0.3608	0.0001	0.02
50	0.3922	0.4419	0.4170	0.0352	8.44
75	0.4020	0.4613	0.4317	0.0419	9.71
100	0.4560	0.4749	0.4655	0.0134	2.87
150	0.5362	0.5278	0.5320	0.0060	1.12
200	0.5829	0.5661	0.5745	0.0119	2.07
250	0.7325	0.7144	0.7234	0.0128	1.77
300	0.7653	0.7363	0.7508	0.0205	2.73

ตารางที่ ค.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงในการศึกษาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับของตัวอย่าง เครื่องดื่มเกลือแร่ชนิดที่ 1 และ spiked sample กลูโคสความเข้มข้น 50 mM

หลอดที่	Abs.1	Abs.2	ค่าเฉลี่ย	Conc. glucose	SD	% RSD
Standard	0.3922	0.4419	0.4170	67.03	0.0352	8.44
Sport drink 1	0.4943	0.4890	0.4916	119.14	0.0037	0.76
spiked	0.5054	0.5351	0.5202	140.57	0.0210	4.04

ตารางที่ ค.3 แสดงค่าการดูดกลืนแสงในการศึกษาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับของตัวอย่าง เครื่องดื่มเกลือแร่ชนิดที่ 2 และ spiked sample กลูโคสความเข้มข้น 50 mM

หลอดที่	Abs.1	Abs.2	ค่าเฉลี่ย	Conc. glucose	SD	% RSD
Standard	0.3922	0.4419	0.4170	67.03	0.0352	8.44
Sport drink 2	0.5190	0.4805	0.4997	126.29	0.0272	5.44
spiked	0.5880	0.5646	0.5763	183.43	0.0166	2.88

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.4 แสดงค่าการดูดกลืนแสงในการศึกษาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับของตัวอย่าง เครื่องดื่มเกลือแร่ชนิดที่ 3 และ spiked sample กลูโคสความเข้มข้น 50 mM

หลอดที่	Abs.1	Abs.2	ค่าเฉลี่ย	Conc. glucose	SD	% RSD
Standard	0.3922	0.4419	0.4170	67.03	0.0352	8.44
Sport drink 3	0.5123	0.5229	0.5176	140.57	0.0075	1.44
spiked	0.5439	0.5570	0.5505	162.00	0.0093	1.69

ตารางที่ ค.5 แสดงค่าการดูดกลืนแสงในการศึกษาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับของตัวอย่าง ปัสสาวะที่ 1 และ spiked sample กลูโคสความเข้มข้น 150 mM

หลอดที่	Abs.1	Abs.2	ค่าเฉลี่ย	Conc. glucose	SD	% RSD
Standard	0.5362	0.5278	0.5320	149.12	0.0060	1.12
Urine 1	0.0958	0.0958	0.0958	-162.40	0.0000	0.00
spiked	0.1138	0.1104	0.1121	-150.77	0.0024	2.13

ตารางที่ ค.6 แสดงค่าการดูดกลืนแสงในการศึกษาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับของตัวอย่าง ปัสสาวะที่ 2 และ spiked sample กลูโคสความเข้มข้น 150 mM

หลอดที่	Abs.1	Abs.2	ค่าเฉลี่ย	Conc. glucose	SD	% RSD
Standard	0.5362	0.5278	0.5320	149.12	0.0060	1.12
Urine 2	0.0928	0.0928	0.0928	-164.55	0.0000	0.00
spiked	0.1106	0.1077	0.1091	-152.90	0.0020	1.86

ตารางที่ ค.7 แสดงค่าการดูดกลืนแสงในการศึกษาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับของตัวอย่าง ปัสสาวะที่ 3 และ spiked sample กลูโคสความเข้มข้น 150 mM

หลอดที่	Abs.1	Abs.2	ค่าเฉลี่ย	Conc. glucose	SD	% RSD
Standard	0.5362	0.5278	0.5320	149.12	0.0060	1.12
Urine 3	0.0969	0.0969	0.0969	-161.65	0.0000	0.00
spiked	0.1100	0.1093	0.1096	-152.54	0.0005	0.43

การคำนวณหาค่าเฉลี่ยของการดูดกลืนแสง

$$\text{จาก } \bar{X} = \frac{\sum x}{n}$$

$$= \frac{0.4943+0.4890}{2} = 0.4916$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การคำนวณหาความเข้มข้นของกลูโคสในตัวอย่าง

จากสมการเส้นตรง $y = 0.0014x + 0.3232$

$$0.4916 = 0.0014x + 0.3232$$

$$x = \frac{0.4916 - 0.3232}{0.0014} = 120.30$$

คำนวณหาค่าการวิเคราะห์ที่คืนกลับ (%Recovery)

$$\begin{aligned} \% \text{ recovery} &= \frac{\text{spiked sample} - \text{sample}}{\text{standard}} \times 100 \\ &= \frac{140.74 - 120.30}{67.03} \times 100 = 30.49 \end{aligned}$$

ตารางที่ ค.8 แสดงค่าการดูดกลืนแสงในการศึกษาความเที่ยง (Precision)

ความเข้มข้น กลูโคส (mM)	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ค่าเฉลี่ย	SD	% RSD
150	0.5362	0.5278	0.5048	0.5052	0.5185	0.0160	3.08

การคำนวณหาค่าเฉลี่ยของการดูดกลืนแสง

$$\begin{aligned} \text{จาก } \bar{x} &= \frac{\sum x}{n} \\ &= \frac{0.5362 + 0.5278 + 0.5048 + 0.5052}{4} = 0.5185 \end{aligned}$$

การคำนวณส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

$$\begin{aligned} \text{SD} &= \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{(0.0177)^2 + (0.0093)^2 + (-0.0137)^2 + (-0.0133)^2}{4-1}} = 0.0160 \end{aligned}$$

การคำนวณค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์

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

$$= \frac{0.0160}{0.5185} \times 100 = 3.08$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้คำปรึกษาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Original article

Colorimetric detection of glucose using a boronic acid derivative receptor attached to unmodified AuNPs

Yan-Ping Li^{a,b}, Ling Jiang^{a,c}, Tao Zhang^{a,b}, Ming Lin^a, Dan-Bi Tian^b, He Huang^{a,*}^a College of Biotechnology and Pharmaceutical Engineering, State Key Laboratory of Materials-Oriented Chemical Engineering, Nanjing University of Technology, Nanjing 210009, China^b College of Science, Nanjing University of Technology, Nanjing 210009, China^c College of Food Science and Light Industry, Nanjing University of Technology, Nanjing 210009, China

ARTICLE INFO

Article history:

Received 8 July 2013

Received in revised form 17 September 2013

Accepted 8 October 2013

Available online 12 November 2013

Keywords:

Colorimetric assay

Glucose detection

Gold nanoparticles

Phenylboronic acid derivative

ABSTRACT

A simple, cheap and non-enzymatic colorimetric strategy for glucose detection has been designed based on the interactions between a phenylboronic acid (PBA) derivative, which is coupled with gold nanoparticles (AuNPs) as the colorimetric reporters, and glucose. The PBA-AuNPs hybrid system proposed here exhibits ordered photochemistry behaviors upon the addition of glucose at different pH values. There are two linear regions of glucose concentration for the glucose sensor at different pH values, i.e., between 0.1 mmol/L and 9.8 mmol/L at pH 6 with the detection limit of 64 $\mu\text{mol/L}$ and between 0 and 6.5 mmol/L with the detection limit of 48 $\mu\text{mol/L}$ at pH 9, respectively. To test the practicality of the sensor system, we also applied this assay to detect a glucose sample in the artificial saliva.

© 2013 He Huang. Published by Elsevier B.V. on behalf of Chinese Chemical Society. All rights reserved.

1. Introduction

Glucose is considered not only a nutrient but also a biomarker correlated with certain diseases, such as renal glycosuria, cystic fibrosis, diabetes, human cancer, and so on. As an important regulatory signal, glucose levels also have a great impact on the hormone secretions. The current research of glucose relies mostly on the epidemics of obesity and the increased incidence of diabetes, which represent major threats for human health. At present, the detection of glucose based on glucose oxidase is very popular, but this method has several severe disadvantages, specially the potential instability during use or sterilization [1,2]. Thus, there is a strong demand for the development of an efficient, cheap and stable glucose detecting strategies.

However, to achieve this goal, we must manipulate the characteristics of the recognized molecular. It has been demonstrated that a tetrahedral boronate ion can form stable complexes with carbohydrates with either 1,2- or 1,3-diol groups. Thus, phenylboronic acid derivatives can specifically recognize carbohydrate and have already been widely employed as promising components for glucose detection [3]. Herein, we used 3-aminophenylboronic acid (APBA) as the affinity selection part, since it is a cheap commercial compound that can stay stable for relatively long period of time.

In this study, we focused on the borate interactions with glucose at different pH ranges reported by gold nanoparticles (AuNPs). Colorimetric assays based on AuNPs have been widely used in a variety of research fields owing to the simple technology and flexible mechanical system. According to the rational surface/interface design, AuNPs exhibit excellent recognition ability. The high extinction coefficient of AuNPs transduces the binding events into detectable optical signals that can be directly observed by naked eyes [4]. Comparing with the fluorescent methods, colorimetric assays need no tedious fabrication operation or any complicated instruments [5].

2. Experimental

$\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, 3-aminophenylboronic acid (APBA), α -amylase, and all metallic salts used in this study were obtained from Sigma Chemical Company. The glucose was purchased from Sinopharm Chemical Reagent Co., Ltd. (Shanghai, China). All other chemicals were of analytical grade. All solutions used in this study were prepared with ultrapure water (18.2 $\text{M}\Omega/\text{cm}$) from an ultrapure water system (Sartorius, Germany). An artificial saliva matrix was prepared according to the ISO/TR 10271 standard [6].

AuNPs were prepared by using the usual citrate reduction method [7,8] with some modifications. Briefly, trisodium citrate (3.2 mL 1 wt%) was rapidly added to a boiling solution of HAuCl_4 , the color of the solution changed from colorless to wine red after boiling for 10 min with stirring. The resulting AuNPs molar concentration was calculated to be 2.2 nmol/L. APBA (20 μL) was

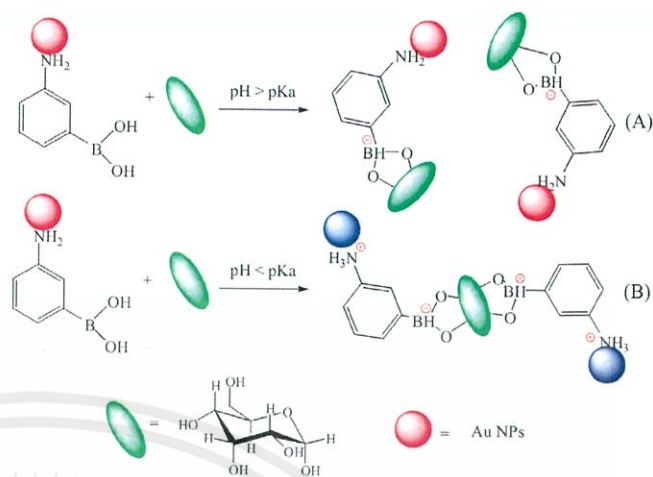
* Corresponding author.

E-mail address: biotech@njut.edu.cn (H. Huang).

added to the AuNPs to produce a reaction mixture for the further glucose determination. UV-vis spectroscopy analysis was performed to determine the optimal detection conditions by a UV-vis absorption spectrophotometer Lambda 25 (Perkin Elemer). UV-vis extinction spectra of the standard solution of glucose with different concentrations and artificial saliva matrix were recorded. Transmission electron microscopy (TEM) analysis of the resulting AuNPs was obtained using a JEOL, JEM-200CX microscope (Japan).

3. Results and discussion

Sensing mechanism employed in this study was shown in Scheme 1. AuNPs can be triggered to aggregate by the electric charge transition after the addition of APBA. The amine group in the APBA plays an important role in this strategy due to its strong binding to the AuNPs interface through both covalent and electrostatic attractions [9,10]. Also, the amine group lowers the *pseudo* pK_a -value of the boronic acid. The charged forms of APBA can form a stable complex with glucose through reversible covalent binding whereas the neutral forms are highly susceptible to hydrolysis. When the pH-value is higher than the pK_a of the APBA, the high density charges caused by the boronic cyclic ester adsorbed around the AuNPs would largely amplify the electrostatic repulsions and keep them from coming close as shown in Scheme 1(A). Here, glucose acts just like a protector, which successfully prevents the formation of bis-bidentate complexes and effectively maintains the AuNPs dispersion [11,12]. However, as described in Scheme 1(B) when the pH-value of the detection system went down below the pK_a of APBA, the presence of positive charges minimized the electrostatic repulsions between the negatively charged boronates, inducing cross-linking of the borate moieties upon bis-bidentate complex formation with glucose. The mechanism illustrates the AuNPs-aggregation involves one glucose



Scheme 1. Detection of glucose at pH-value upon pK_a (A), and below pK_a (B). The pK_a of the APBA is 8.86.

molecule bound simultaneously to two boronates and brings the gold nanoparticle closer, eventually causes a color change.

Glucose prefers to bind with PhB(OH)₃ through reversible covalent binding, while the PhB(OH)₂ form is highly susceptible to hydrolysis [13]. The interactions between phenylboronic and glucose produce negative charges, which enhance the electrostatic repulsion and strongly inhibit AuNPs aggregations caused by the positive charge of APBA. Gradually increasing the amount of glucose led to a decrease in absorbance at 650 nm and AuNPs appeared to change from the aggregation state to the monodispersed state (Fig. 1B to A). The degree of inhibited aggregation was associated with glucose concentration (Fig. 2A). Here, we used

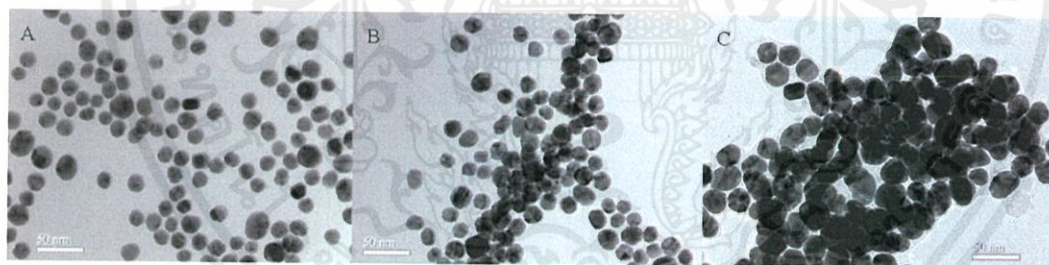


Fig. 1. TEM images of AuNPs with APBA and glucose addition at pH 9 (A) AuNPs with APBA addition only (B) AuNPs with APBA and glucose addition at pH 6 (C).

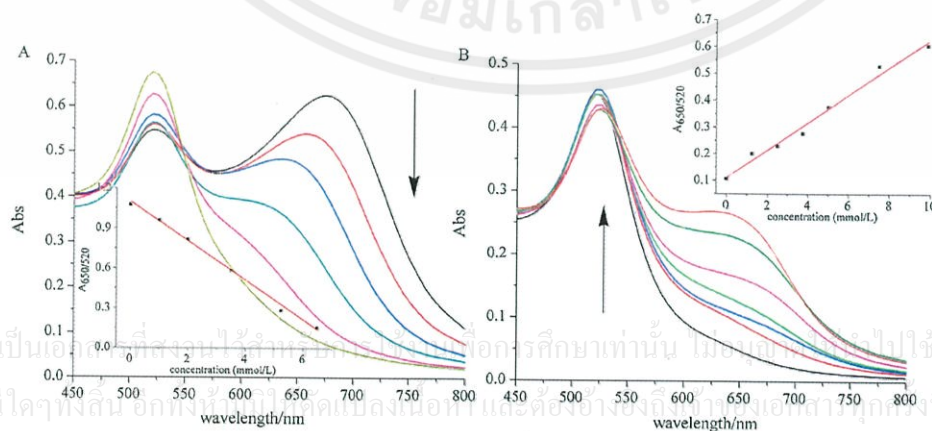


Fig. 2. UV-vis spectra of solutions of 15 nm AuNPs upon the addition of 30 μmol/L APBA and glucose at pH 9 (A); and AuNPs upon the addition of 10 μmol/L APBA and glucose at pH 6 (B).

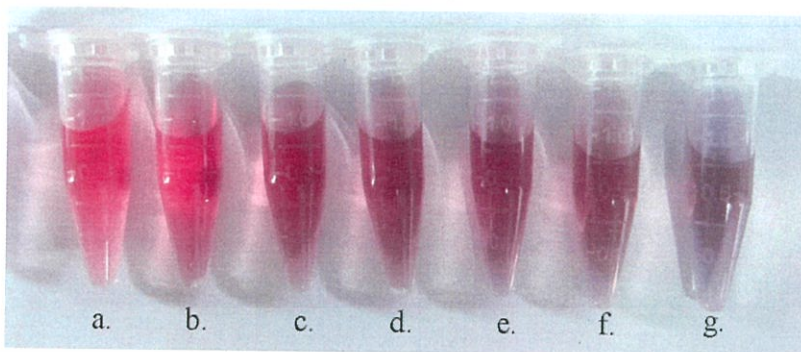


Fig. 3. Visual color changes of 15 nm AuNPs solutions after addition of 8 $\mu\text{mol/L}$ APBA and different concentrations of glucose in artificial saliva. (a) 0 mmol/L, (b) 0.25 mmol/L, (c) 1.5 mmol/L, (d) 2.75 mmol/L, (e) 4.5 mmol/L, and (f) 6.75 mmol/L.

Table 1
The results of recovery test.

Sample	Added (mmol/L)	Found (mmol/L)	Recovery (%)
1	2.00	2.15 ± 0.03	107.5 ± 1.5
2	1.80	1.91 ± 0.02	105.8 ± 1.1
3	1.60	1.55 ± 0.02	96.7 ± 1.3
4	1.20	1.23 ± 0.01	102.6 ± 0.8

the ratio of the extinction value at 650 nm and 520 nm to quantify the aggregation process or color change, because it is less vulnerable to fluctuation in sampling and monitoring conditions. The inset image was the plot of the response curve for the glucose sensor system. Their linear equation is $Y = -0.1477x + 1.09488$ with $R^2 = 0.995$. However, the interesting results appeared by reducing the pH values (Fig. 2B). Upon the addition of various amounts of glucose, the intensity of the UV–vis absorption peak at 520 nm concomitantly decreased along with the increase in the extinction at 650 nm, indicating the AuNP aggregation was suppressed with the increase of glucose concentration, which could be supported by TEM measurements (Fig. 1B to C). The linear equation is $Y = 0.05137x + 0.11233$ with $R^2 = 0.983$.

To test the practicality of our detection system, we applied this assay to detect the glucose in artificial saliva. Fig. 3 illustrated the visual color of AuNPs solutions upon adding 10 $\mu\text{mol/L}$ of APBA and different concentrations of glucose in artificial saliva. As the concentration increased, the color progression of the AuNPs–APBA system changed from red to blue and could be easily distinguished by naked eyes. We also determined the recovery of glucose that was spiked into artificial saliva samples and the results were listed in Table 1. The good recovery indicated that our sensor system might be suitable for the detection of glucose levels in real samples.

4. Conclusion

In this work, we managed to design a novel strategy for the effective detection of glucose that exhibited dual behaviors in response to glucose concentrations depending on the operating pH-value. This work provided a new thought for the development of simple, inexpensive assays that may be highly useful for practical glucose monitoring. We anticipate that more improvements can

be achieved in such systems for the development of glucose sensors and more information can be gathered for the studies on the interactions between boronic acids and glycoproteins on cell surfaces.

Acknowledgments

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China for Young Scholars (No. 21106064), the National Basic Research Program of China (No. 2012CB725204), the National Science Foundation for Distinguished Young Scholars of China (No. 21225626), the Natural Science Foundation of Jiangsu Province (Nos. BK2012822 and BK20131406).

References

- [1] T.S. Li, K. Zhu, S. He, et al., Sensitive detection of glucose based on gold nanoparticles assisted silver mirror reaction, *Analyst* 136 (2011) 2893–2896.
- [2] H. Wei, E. Wang, Fe_3O_4 magnetic nanoparticles as peroxidase mimetics and their applications in H_2O_2 and glucose detection, *Anal. Chem.* 80 (2008) 2250–2254.
- [3] Q. Wu, L. Wang, H. Yu, J. Wang, Z. Chen, Organization of glucose-responsive systems and their properties, *Chem. Rev.* 111 (2011) 7855–7875.
- [4] X.R. Yang, J. Xu, X.M. Tang, H.X. Liu, D.B. Tian, A novel electrochemical DNAzyme sensor for the amplified detection of Pb^{2+} ions, *Chem. Commun.* 46 (2010) 3107–3109.
- [5] X.W. Xu, X.R. Yang, Facile colorimetric detection of glucose based on an organic Fenton reaction, *Anal. Methods* 3 (2011) 1056–1059.
- [6] ISO TR 10271, Dentistry–Determination of Tarnish and Corrosion of Metals and Alloys, first ed., Bern, Switzerland, 1993, pp. 3–8.
- [7] J.J. Storhoff, R. Elghariani, R.C. Mucic, C.A. Mirkin, R.L. Letsinger, One-pot colorimetric differentiation of polynucleotides with single base imperfections using gold nanoparticle probes, *J. Am. Chem. Soc.* 120 (1998) 1959–1964.
- [8] J. Wang, Y. Cao, Y.Y. Xu, G.X. Li, Colorimetric multiplexed immunoassay for sequential detection of tumor markers, *Biosens. Bioelectron.* 25 (2009) 532–536.
- [9] H.L. Zhang, S.D. Evans, J.R. Henderson, R.E. Miles, T.H. Shen, Spectroscopic characterization of gold nanoparticles passivated by mercaptopyrindine and mercaptoprimidine derivatives, *J. Phys. Chem. B.* 107 (2003) 6087–6095.
- [10] X.R. Yang, H.X. Liu, J. Xu, et al., A simple and cost-effective sensing strategy of mercury (II) based on analyte-inhibited aggregation of gold nanoparticles, *Nanotechnology* 22 (2011) 275503–275508.
- [11] C. Anclá, V. Lapeyre, I. Gosse, B. Catargi, V. Ravaine, Designed glucose-responsive microgels with selective shrinking behavior, *Langmuir* 27 (2011) 12693–12701.
- [12] K. Nakashima, R. Iguchi, S. Shinkai, Diaza-18-crown-6-based saccharide receptor bearing two boronic acids. Possible communication between bound saccharides and metal cations, *Ind. Eng. Chem. Res.* 39 (2000) 3479–3483.
- [13] J. Böeseken, The use of boric acid for the determination of the configuration of carbohydrates, *Adv. Carbohydr. Chem.* 4 (1949) 189–210.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

