

การสังเคราะห์และการประยุกต์ใช้อนุภาคทองคำระดับนาโนเพื่อวิเคราะห์ปริมาณ
กลูโคสในปัสสาวะด้วยหลักการ ยูวี - วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตเมทรี

SYNTHESIS AND APPLICATION OF GOLD NANOPARTICLES
TO DETERMINATION OF GLUCOSE IN URINE
BY UV - VISIBLE SPECTROPHOTOMETRY



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชา เคมีอุตสาหกรรม
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2557

การสังเคราะห์และการประยุกต์ใช้อนุภาคทองคำระดับนาโนเพื่อวิเคราะห์ปริมาณ
กลูโคสในปัสสาวะด้วยหลักการ ยูวี - วิซิเบิล สเปกโทรโฟโตเมทรี

SYNTHESIS AND APPLICATION OF GOLD NANOPARTICLES
TO DETERMINATION OF GLUCOSE IN URINE
BY UV – VISIBLE SPECTROPHOTOMETRY



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชา เคมีอุตสาหกรรม
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2557

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

SYNTHESIS AND APPLICATION OF GOLD NANOPARTICLES
TO DETERMINATION OF GLUCOSE IN URINE
BY UV – VISIBLE SPECTROPHOTOMETRY



A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS
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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ

การสังเคราะห์และการประยุกต์ใช้อนุภาคทองระดับนาโนเพื่อวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสในปัสสาวะด้วยหลักการ ยูวี – วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี

Synthesis and Application of Gold Nanoparticles to Determination of Glucose in Urine by UV – Visible Spectrophotometry

ชื่อนักศึกษา

นางสาวกานต์ธีรา สำรี รหัสนักศึกษา 54050128
 นางสาวนิพัทธวรรณ นารี รหัสนักศึกษา 54050194
 นางสาวนิภาพร พุ่มยี่หาว รหัสนักศึกษา 54050195

ปริญญา

วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)

ภาควิชา

เคมี




ปีการศึกษา

2557

อาจารย์ที่ปรึกษา

ดร.ณัฐวุฒิ เจริญชัย

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2557

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ดร.เสาวภาคย์ ธีราทรง ประธานกรรมการ	
ดร.เอกรัฐ เดชศรี กรรมการ	
ดร.ณัฐวุฒิ เจริญชัย กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ

การสังเคราะห์และการประยุกต์ใช้อนุภาคทองระดับนาโนเพื่อวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสในปัสสาวะด้วยหลักการ ยูวี – วิซิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี

Synthesis and Application of Gold Nanoparticles To Determination of Glucose in Urine by UV – Visible Spectrophotometry

ชื่อนักศึกษา

นางสาวกานต์ธีรา สำรี รหัสนักศึกษา 54050128

นางสาวนิพัทธวรรณ นารี รหัสนักศึกษา 54050194

นางสาวนิภาพร พุ่มยี่หว่า รหัสนักศึกษา 54050195

ปริญญา

วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)

ภาควิชา

เคมี

ปีการศึกษา

2557

อาจารย์ที่ปรึกษา

ดร.ณัฐวุฒิ เจริญชัย

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ นำเสนอการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโน (AuNPs) โดยใช้วิธีเตอร์กิวซ์และการประยุกต์ใช้เพื่อวิเคราะห์ปริมาณกลูโคส โดยอาศัยเทคนิค ยูวี – วิซิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี การสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนทำภายใต้ระบบเปิดที่อุณหภูมิ 97 องศาเซลเซียส โดยการรีดิวซ์สารละลายทองด้วยสารละลายไตรโซเดียมซิเตรต สารละลายจะเปลี่ยนสีจากสีเหลืองอ่อนไปเป็นสีแดง ทิ้งให้สารละลายเย็นจนถึงอุณหภูมิห้องก่อนนำไปใช้ ศึกษาคุณสมบัติทางแสงด้วยเครื่อง ยูวี – วิซิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ พบว่า ค่าความยาวคลื่นสูงสุดของอนุภาคทองระดับนาโน (λ_{max}) อยู่ที่ 518 นาโนเมตร

การวิเคราะห์ปริมาณกลูโคส อาศัยการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ลดลงที่ความยาวคลื่น 518 นาโนเมตร ในขณะที่เดียวกับค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร เนื่องจากการรวมตัวกัน (aggregation) ของอนุภาคทองระดับนาโน ทำให้สารละลายเปลี่ยนไปจากสีแดงเป็นสีม่วง ผลการศึกษาพบว่าเทคนิค ยูวี – วิซิเบิล สเปกโทรโฟโตเมทรีสามารถวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสได้ในช่วง 1 – 300 มิลลิโมลต่อลิตร โดยมีความเป็นเส้นตรงที่พอยอมรับได้ ($y = 0.0014x + 0.33$, $R^2 = 0.9877$) มีความเที่ยงสูง (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับร้อยละ 3.07) ได้ประยุกต์ใช้วิธีนี้เพื่อหาปริมาณกลูโคสในเครื่องดื่มเกลือแร่และตัวอย่างปัสสาวะที่มีการเติมกลูโคสลงไป สำหรับตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่ พบว่า มีค่าร้อยละการวิเคราะห์คืนกลับอยู่ในเกณฑ์พอใช้ สำหรับตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่ และสำหรับตัวอย่างปัสสาวะที่มีการเติมกลูโคส พบว่า ค่าร้อยละการวิเคราะห์คืนกลับไม่เป็นที่ยอมรับ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการรบกวนจากองค์ประกอบในตัวอย่าง

คำสำคัญ: กลูโคส, อนุภาคทองระดับนาโน, สเปกโทรโฟโตเมทรี, เครื่องดื่มเกลือแร่, ปัสสาวะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Synthesis and Application of Gold Nanoparticles to Determination of Glucose in Urine by UV – Visible Spectrophotometry		
Students	Miss Kanteera	Samree	Student ID 54050128
	Miss Nipawan	Naree	Student ID 54050194
	Miss Nipaporn	Pumyeeva	Student ID 54050195
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 ($y = 0.0014x + 0.33$, $R^2 = 0.9877$) was achieved in the concentration range of standard glucose ranging from 1 to 300 mM. Good precision was observed (RSD = 3.07 %). This method was applied to tonic water and spiked urine samples. For tonic water samples, analytical recovery was acceptable (from 83 to 153 %). For spiked urine sample, poor recovery was observed. This may be due to matrix effect.

Keywords: Glucose, Gold nanoparticles, Spectrophotometry, Determination, Tonic water, Urine

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษจัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง โครงการพิเศษนี้สามารถประสบความสำเร็จได้ทางคณะผู้วิจัยต้องขอขอบพระคุณ ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชั้น อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษที่ได้ให้คำแนะนำและคำปรึกษาตลอดการดำเนินงานวิจัยให้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ดร.เสาวภาคย์ ธีราทรง และ ดร.เอกรัฐ เดชศรี ที่เสียสละเวลามาเป็นกรรมการในการสอบโครงการพิเศษนี้ รวมทั้งให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์เกี่ยวกับงานวิจัย

ขอขอบคุณ คุณอาจณรงค์ เมธาวิสรรเสริญ และ คุณอรฉัตร เลิศอิทธิพร ที่กรุณาติดตามตรวจสอบดูแลเอาใจใส่เป็นอย่างดี จนโครงการพิเศษสามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และหน่วยวิจัยเคมีวิเคราะห์เชิงประยุกต์ ที่สนับสนุนให้ใช้พื้นที่และสาธารณูปโภค รวมถึงเครื่องมือและอุปกรณ์ทางวิทยาศาสตร์ต่างๆเป็นอย่างดี

สุดท้ายนี้ ขอขอบพระคุณ บิดา มารดา และครอบครัว ที่สนับสนุนและให้กำลังใจคณะผู้วิจัยด้วยดีเสมอมา



นางสาว กานต์ธีรา
นางสาว นิพัทธวรรณ
นางสาว นิภาพร

สำรี
นารี
พุ่มยี่หว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญรูป.....	ญ
คำย่อ/สัญลักษณ์.....	ฒ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 กลูโคสและความสำคัญของการตรวจกลูโคสในปัสสาวะ.....	4
2.1.1 กลูโคส.....	4
2.1.2 ความสำคัญของการตรวจกลูโคสในปัสสาวะ.....	4
2.2 วิธีมาตรฐานในการตรวจกลูโคส.....	5
2.2.1 การใช้แถบตรวจปัสสาวะ.....	5
2.2.2 การใช้ปฏิกิริยาทางเอนไซม์.....	5
2.3 นาโนเทคโนโลยี, อนุภาคทองระดับนาโน (AuNPs).....	6
2.3.1 นาโนเทคโนโลยี.....	6
2.3.2 อนุภาคทองระดับนาโน (AuNPs).....	6
2.4 ทฤษฎีเซออร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์ (Surface Plasmon Resonance, SPR)...	8
2.4.1 การเกิดคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า.....	8
2.4.2 การเกิดเซออร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์.....	9
2.5 เครื่องยวี่-วิสิเบิลสเปกโทรโฟมิเตอร์.....	10
2.5.1 กฎของเบียร์-แลมเบิร์ต (Beer-Lambert's law).....	10
2.5.2 องค์ประกอบหลักของเครื่องยวี่-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์.....	11
2.6 หลักการตรวจวัด.....	13
2.6.1 โครงสร้างของ 3-aminophenylboronic acid (APBA).....	13
2.6.2 การศึกษาการตรวจวัดกลูโคสที่พีเอช 9.....	13
2.6.3 การศึกษาการตรวจวัดกลูโคสที่พีเอช 6.....	14
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และแจ้งอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	18
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์.....	18
3.1.1 สารเคมี.....	18
3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องตรวจวัด.....	18
3.2 การเตรียมสารละลาย.....	19
3.2.1 การเตรียมสารละลายสำหรับสังเคราะห์อนุภาคของระดับนาโน.....	19
3.2.2 การเตรียมสารละลายสำหรับการศึกษาความเป็นไปได้ในการตรวจวัดกลูโคส.....	19
3.2.3 การเตรียมสารตัวอย่าง.....	20
3.3 วิธีดำเนินการทดลอง.....	21
3.3.1 ศึกษาวิธีการสังเคราะห์อนุภาคของระดับนาโนโดยใช้ Turkevich method.....	21
3.3.2 ศึกษาการตรวจวัดกลูโคสด้วยอนุภาคของระดับนาโน.....	21
3.3.2.1 ศึกษาปริมาณของสารละลายอนุภาคของระดับนาโนที่เหมาะสมในการตรวจวัด.....	21
3.3.2.2 ศึกษาความเข้มข้นของ 3-aminophenylboronic acid (APBA) ที่เหมาะสม.....	22
3.3.2.3 ศึกษาลำดับในการผสมสารละลายในการตรวจวัดหาปริมาณกลูโคสที่พีเอช 9.....	23
3.3.2.4 การศึกษาความเป็นไปได้ในการตรวจวัดกลูโคสที่พีเอช 6.....	25
3.3.2.5 ผลการศึกษาลำดับการทำปฏิกิริยาที่พีเอช 6.....	25
3.3.3 การศึกษาคุณลักษณะของวิธีวิเคราะห์.....	27
3.3.3.1 การศึกษาความเป็นเส้นตรง.....	27
3.3.3.2 การศึกษาความเที่ยง.....	28
3.3.3.3 การศึกษาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ.....	29
3.3.3.4 การศึกษาค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด.....	29
3.3.4 การประยุกต์ใช้วิเคราะห์กลูโคสในตัวอย่าง.....	30
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล.....	31
4.1 ผลการศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคของระดับนาโนโดยใช้ Turkevich method....	31
4.2 ผลการศึกษาการตรวจวัดกลูโคสด้วยอนุภาคของระดับนาโน.....	32
4.2.1 ผลการศึกษาสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคของระดับนาโนที่เกิดอันตรกิริยากับ APBA.....	32
4.2.2 ผลการศึกษาปริมาณอนุภาคของระดับนาโนที่เหมาะสมในการตรวจวัด.....	33
4.2.3 ผลการศึกษาความเข้มข้นของ APBA ที่เหมาะสม.....	34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.2.4 ผลการศึกษาลำดับการทำปฏิกิริยาที่พีเอช 9	35
4.2.4.1 ผลการศึกษาการปรับพีเอชที่สารละลายอนุภาคทองระดับนาโน....	35
4.2.4.2 ผลการศึกษาการปรับพีเอชก่อนที่จะเติมสารละลายกลูโคส.....	36
4.2.4.3 ผลการศึกษาการปรับพีเอชที่สารละลาย APBA	36
4.2.5 ผลการศึกษาความเป็นไปได้ในการตรวจวัดกลูโคสที่พีเอช 6	38
4.2.6 ผลการศึกษาลำดับการทำปฏิกิริยาที่พีเอช 6	40
4.2.6.1 ผลการศึกษาการปรับพีเอชที่สารละลายอนุภาคทองระดับนาโน	40
4.2.6.2 ผลการศึกษาการปรับพีเอชก่อนที่จะเติมสารละลายกลูโคส.....	41
4.2.6.3 ผลการศึกษาการปรับพีเอชที่สารละลาย APBA	41
4.3 ผลการศึกษาคุณลักษณะเด่นของวิธี	42
4.3.1 ผลการศึกษาความเป็นเส้นตรง	42
4.3.2 ผลการศึกษาความเที่ยง	43
4.3.3 ผลการศึกษาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ	44
4.3.4 ผลการศึกษาค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด	45
4.4 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคสในตัวอย่าง	45
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	47
5.1 สรุปผลการวิจัย	47
5.2 ข้อเสนอแนะ	47
เอกสารอ้างอิง.....	48
ภาคผนวก	50
ภาคผนวก ก	51
ภาคผนวก ข	55
ภาคผนวก ค	57
ภาคผนวก ง	59
ภาคผนวก จ	61
ภาคผนวก ฉ	70
ภาคผนวก ช	74
ภาคผนวก ซ	78
เอกสารงานวิจัยอ้างอิง	85

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
3.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่มีความเข้มข้นต่างๆ	20
3.2 แสดงสัดส่วนของสารละลายที่ใช้ศึกษาปริมาตรของสารละลายอนุภาคของระดับนาโน ที่เหมาะสม.....	22
3.3 แสดงสัดส่วนของสารละลายที่ใช้ศึกษาความเข้มข้นของ APBA ที่เหมาะสม	22
3.4 แสดงสัดส่วนของสารละลายที่ใช้ศึกษาการปรับพีเอชเป็น 9 ที่สารละลายอนุภาคของ ระดับนาโนก่อนนำไปทำปฏิกิริยา.....	23
3.5 แสดงสัดส่วนของสารละลายที่ใช้ศึกษาลำดับการทำปฏิกิริยาแบบผสมสารละลายอนุภาค ของระดับนาโนกับเอพีบีเอและปรับพีเอชเป็น 9 ก่อนเติมสารละลายมาตรฐานกลูโคส.....	24
3.6 แสดงสัดส่วนของสารละลายที่ใช้ศึกษาลำดับการทำปฏิกิริยาแบบผสมสารละลายกลูโคสกับ APBA ก่อนเติมสารละลายของอนุภาคของระดับนาโนโดยมีการปรับพีเอชที่ APBA ก่อน....	25
3.7 แสดงสัดส่วนของสารละลายที่ใช้ศึกษาการปรับพีเอชที่สารละลายอนุภาคของระดับนาโนก่อน นำไปทำปฏิกิริยา.....	26
3.8 แสดงสัดส่วนของสารละลายที่ใช้ศึกษาการตรวจวัดกลูโคสที่พีเอช 6	27
3.9 แสดงสัดส่วนของสารละลายที่ใช้ศึกษาความเป็นเส้นตรง	28
3.10 แสดงสัดส่วนของสารละลายที่ใช้ศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคสในตัวอย่าง	30
4.1 สรุปสมการเชิงเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ เมื่อใช้ความเข้มข้นสุดท้ายของ APBA ที่ความเข้มข้นต่างๆ (ความเข้มข้นสุดท้ายของ APBA ที่ 30 ไมโครโมลต่อลิตร)	34
4.2 สรุปสมการเชิงเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ เมื่อใช้ความเข้มข้นสุดท้ายของ APBA ที่ความเข้มข้นต่างๆ (ความเข้มข้นสุดท้ายของ APBA ที่ 10 ไมโครโมลต่อลิตร)	39
4.3 แสดงผลการคำนวณหาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกลูโคส ในตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่ด้วยเครื่องยูวี – วิซิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์	44
4.4 แสดงผลการคำนวณหาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกลูโคส ในตัวอย่างปัสสาวะด้วยเครื่องยูวี – วิซิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์	44
4.5 แสดงผลการทดลองในการหาปริมาณในตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่และตัวอย่างปัสสาวะด้วย เครื่องยูวี – วิซิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์	45
4.6 แสดงการคำนวณความเข้มข้นที่แท้จริงในสารละลายตัวอย่าง	46
ก.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 522 นาโนเมตร และ 638 นาโนเมตร ตาม ความเข้มข้นต่างๆของกลูโคส.....	53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และขอร้องอภัยถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ง.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 522 นาโนเมตร และ 620 นาโนเมตร ตามความเข้มข้นต่างๆของกลูโคส.....	59
จ.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร และ 650 นาโนเมตร ตามความเข้มข้นต่างๆของกลูโคส (สารละลาย APBA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลต่อลิตร).....	62
จ.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร และ 650 นาโนเมตร ตามความเข้มข้นต่างๆของกลูโคส (สารละลาย APBA ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลต่อลิตร).....	64
จ.3 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร และ 650 นาโนเมตร ตามความเข้มข้นต่างๆของกลูโคส (สารละลาย APBA ความเข้มข้น 30 ไมโครโมลต่อลิตร).....	66
จ.4 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร และ 650 นาโนเมตร ตามความเข้มข้นต่างๆของกลูโคส (สารละลาย APBA ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลต่อลิตร).....	68
ฉ.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ตามความเข้มข้นต่างๆของกลูโคส.	71
ฉ.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ตามความเข้มข้นต่างๆของกลูโคส.	72
ฉ.3 แสดงอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตร ตามความเข้มข้นต่างๆของกลูโคส.....	73
ช.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ตามความเข้มข้นต่างๆของกลูโคส.	75
ช.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ตามความเข้มข้นต่างๆของกลูโคส.	76
ช.3 แสดงอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตร ตามความเข้มข้นต่างๆของกลูโคส.....	77
ช.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ตามความเข้มข้นต่างๆของกลูโคส.	78
ช.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ตามความเข้มข้นต่างๆของกลูโคส.	79
ช.3 แสดงอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตร ตามความเข้มข้นต่างๆของกลูโคส.....	80
ช.4 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 150 มิลลิโมลต่อลิตร	81
ช.5 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 150 มิลลิโมลต่อลิตร	81
ช.6 แสดงความเที่ยงในการหาปริมาณกลูโคสโดยใช้อนุภาคทองระดับนาโน ด้วยเครื่องยูวี – วิซิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์	81

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ซ.7 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 และ 650 นาโนเมตร ของตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่และตัวอย่างปัสสาวะ.....	82
ซ.8 แสดงอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตร และความเข้มข้นที่แท้จริงของตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่และตัวอย่างปัสสาวะ (Sample).....	82
ซ.9 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 และ 650 นาโนเมตร ของตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่ ที่เติมสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลต่อลิตร.....	83
ซ.10 แสดงอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตร และความเข้มข้นที่แท้จริงของตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่ ที่เติมสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลต่อลิตร (Spike sample).....	83
ซ.11 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 และ 650 นาโนเมตร ของตัวอย่างปัสสาวะ ที่เติมสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 150 มิลลิโมลต่อลิตร	83
ซ.12 แสดงอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตร และความเข้มข้นที่แท้จริงของตัวอย่างปัสสาวะ ที่เติมสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 150 มิลลิโมลต่อลิตร (Spike sample)	84
ซ.13 แสดงความเข้มข้นที่แท้จริงของสารละลายมาตรฐานกลูโคส ที่ความเข้มข้น 50 และ 150 มิลลิโมลต่อลิตร (Standard)	84

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 แสดงโครงสร้างน้ำตาลกลูโคส	4
2.2 แสดงแถบตรวจปัสสาวะและแถบสีเปรียบเทียบผลการตรวจ	5
2.3 แสดงสีของอนุภาคทองระดับนาโนที่ขนาดต่างๆ	7
2.4 แสดงรูปร่างแบบต่างๆของอนุภาคทองระดับนาโน.....	7
2.5 แสดงสนามแม่เหล็กและสนามไฟฟ้าซึ่งทำมุมตั้งฉาก	8
2.6 แสดงการเกิดคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า.....	8
2.7 แสดงทิศทางและขนาดของแรงจากประจุบวกไปประจุลบ	9
2.8 แสดงกลุ่มหมอกของอิเล็กตรอน.....	9
2.9 แสดงแสงตกกระทบด้วยความเข้ม I_0 และแสงที่ทะลุผ่านมีความเข้ม I เมื่อเดินทางทะลุผ่าน สารละลายที่มีระยะทาง b	10
2.10 แสดงโมนโครมาเตอร์.....	11
2.11 แสดงองค์ประกอบหลักของเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟมิเตอร์.....	12
2.12 แสดงโครงสร้างของ 3-aminophenylboronic acid ที่ละลายน้ำ.....	13
2.13 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาของ APBA กับสารละลายกลูโคส และอนุภาคทองระดับ นาโนที่พีเอช 9.....	13
2.14 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาของ APBA กับสารละลายกลูโคส และอนุภาคทองระดับ นาโนที่พีเอช 6.....	14
2.15 แสดงโครงสร้างของ 3-aminophenylboronic acid (APBA).....	14
4.1 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโน	31
4.2 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนที่เกิดอันตรกิริยากับ APBA	32
4.3 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนปริมาตร 1, 2, 4, 6 และ 8 มิลลิลิตร ตามลำดับ ในการเกิดอันตรกิริยากับ APBA ที่มีความเข้มข้น 30 ไมโครโมลต่อลิตร	33
4.4 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตร กับสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 1, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร	34
4.5 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 615/519 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 0-50 มิลลิโมลต่อลิตร.....	35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.6 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 693/525 นาโนเมตรกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 0, 10, 50, 100 และ 500 มิลลิโมลต่อลิตร.....	36
4.7 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 1 - 300 มิลลิโมลต่อลิตร	37
4.8 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคของระดับนาโนหลังทำปฏิกิริยากับสารละลาย APBA ความเข้มข้น 30 ไมโครโมลต่อลิตร ที่ปรับพีเอช 9 และสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 0, 10, 50, 100 และ 500 มิลลิโมลต่อลิตร.....	38
4.9 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตร กับสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 1, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร.....	39
4.10 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 1 - 300 มิลลิโมลต่อลิตร.....	40
4.11 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 1 - 300 มิลลิโมลต่อลิตร.....	41
4.12 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคของระดับนาโนหลังทำปฏิกิริยากับสารละลาย APBA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลต่อลิตร และสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 1 - 300 มิลลิโมลต่อลิตร ตามลำดับ.....	42
4.13 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตร ของสารละลาย APBA ที่ความเข้มข้นสุดท้าย 10 ไมโครโมลต่อลิตร กับสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 1 - 300 มิลลิโมลต่อลิตร.....	43
ก.1 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคของระดับนาโนหลังทำปฏิกิริยากับสารละลาย APBA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลต่อลิตร และสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 0, 10, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร	51
ก.2 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคของระดับนาโนหลังทำปฏิกิริยากับสารละลาย APBA ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลต่อลิตร และสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 0, 10, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร	52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
ก.3 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนหลังทำปฏิกิริยากับสารละลาย APBA ความเข้มข้น 30 ไมโครโมลต่อลิตร และสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 0, 10, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร	52
ก.4 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนหลังทำปฏิกิริยากับสารละลาย APBA ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลต่อลิตร และสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 0, 10, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร	53
ก.5 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 522 นาโนเมตร ของสารละลาย APBA ที่ความเข้มข้น 30 ไมโครโมลต่อลิตร กับสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 1, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร	54
ก.6 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 638 นาโนเมตร ของสารละลาย APBA ที่ความเข้มข้น 30 ไมโครโมลต่อลิตร กับสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 1, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร	54
ข.1 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนที่ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 0 – 50 มิลลิโมลต่อลิตร	55
ข.2 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 519 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 0-50 มิลลิโมลต่อลิตร.....	56
ข.3 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 615 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 0-50 มิลลิโมลต่อลิตร.....	56
ค.1 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนปริมาตร 8 มิลลิลิตร ในการเกิดอันตรกิริยากับ APBA ที่มีความเข้มข้นสุดท้าย 30 ไมโครโมลต่อลิตร ทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 0 - 500 มิลลิโมลต่อลิตร.....	57
ค.2 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 0 - 500 มิลลิโมลต่อลิตร...	58
ค.3 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 693 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 0 - 500 มิลลิโมลต่อลิตร...	58
ง.1 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 522 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 0, 10, 50, 100 และ 500 มิลลิโมลต่อลิตร	59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และตั้งอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
จ.2 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 0, 10, 50, 100 และ 500 มิลลิโมลต่อลิตร	60
จ.1 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนหลังทำปฏิกิริยากับสารละลาย APBA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลต่อลิตร และสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 1, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร	61
จ.2 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ของสารละลาย APBA ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลต่อลิตร กับสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 1, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร	62
จ.3 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ของสารละลาย APBA ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลต่อลิตร กับสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 1, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร	63
จ.4 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนหลังทำปฏิกิริยากับสารละลาย APBA ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลต่อลิตร และสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 1, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร	63
จ.5 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ของสารละลาย APBA ที่ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลต่อลิตร กับสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 1, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร	64
จ.6 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ของสารละลาย APBA ที่ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลต่อลิตร กับสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 1, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร	65
จ.7 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนหลังทำปฏิกิริยากับสารละลาย APBA ความเข้มข้น 30 ไมโครโมลต่อลิตร และสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 0, 10, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร	65
จ.8 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ของสารละลาย APBA ที่ความเข้มข้น 30 ไมโครโมลต่อลิตร กับสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 1, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร.....	66
จ.9 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ของสารละลาย APBA ที่ความเข้มข้น 30 ไมโครโมลต่อลิตร กับสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 1, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร.....	67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
จ.10 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนหลังทำปฏิกิริยากับสารละลาย APBA ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลต่อลิตร และสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 1, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร	67
จ.11 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ของสารละลาย APBA ที่ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลต่อลิตร กับสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ ระดับความเข้มข้น 1, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร	68
จ.12 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ของสารละลาย APBA ที่ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลต่อลิตร กับสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ ระดับความเข้มข้น 1, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร	69
ฉ.1 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนที่ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน กลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 0 – 300 มิลลิโมลต่อลิตร	70
ฉ.2 แสดงกราฟมาตรฐานค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของ สารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 1 - 300 มิลลิโมลต่อลิตร.....	71
ฉ.3 แสดงกราฟมาตรฐานค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของ สารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 1 - 300 มิลลิโมลต่อลิตร.....	72
ช.1 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนที่ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน กลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 1 – 300 มิลลิโมลต่อลิตร	74
ช.2 แสดงกราฟมาตรฐานค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของ สารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 1 - 300 มิลลิโมลต่อลิตร.....	75
ช.3 แสดงกราฟมาตรฐานค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของ สารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 1 - 300 มิลลิโมลต่อลิตร.....	76
ช.1 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ของ สารละลาย APBA ที่ความเข้มข้นสุดท้าย 10 ไมโครโมลต่อลิตร กับสารละลายมาตรฐาน กลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 1 - 300 มิลลิโมลต่อลิตร.....	79
ช.2 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ของ สารละลาย APBA ที่ความเข้มข้นสุดท้าย 10 ไมโครโมลต่อลิตร กับสารละลายมาตรฐาน กลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 1 - 300 มิลลิโมลต่อลิตร.....	80

คำย่อ/สัญลักษณ์

AuNPs	อนุภาคทองระดับนาโน (Gold nanoparticles)
APBA	3 – aminophenylboronic acid
SPR	เซอ์เฟจ พลาสมอน เรโซแนนซ์ (Surface Plasmon Resonance)
pH	ระดับความเป็นกรดต่าง
%RSD	Relative Standard Deviation
LOD	Limit of detection
R ²	Coefficient of determination (สัมประสิทธิ์การตัดสินใจ)
nm	นาโนเมตร
mM	มิลลิโมลต่อลิตร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และตัดต่ออ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย

โรคเบาหวาน เป็นโรคที่พบบ่อยในคนไทยและทั่วโลก โดยคาดว่าจำนวนผู้ป่วยเบาหวานทั่วโลกจะเพิ่มขึ้นจาก 366 ล้านคนในปี ค.ศ. 2011 (พ.ศ. 2554) เป็น 552 ล้านคนในปี ค.ศ. 2030 (พ.ศ. 2573) สำหรับประเทศไทย พบผู้ป่วยเบาหวานประมาณกว่า 3.5 ล้านคนจากการสำรวจเมื่อปี พ.ศ. 2556 [1]

กลูโคสเป็นแหล่งพลังงานซึ่งจะถูกปล่อยจากลำไส้หรือตับไปยังเซลล์ของร่างกายโดยกระแสเลือด โดยปกติร่างกายจะควบคุมระดับกลูโคสในเลือดให้อยู่ระหว่าง 70 -100 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของการรักษาสมดุลของร่างกาย แต่หากระดับกลูโคสในเลือดอยู่ระหว่าง 100 – 125 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร จะนับว่ามีความเสี่ยงต่อการเป็นโรคเบาหวาน และหากระดับกลูโคสในเลือดสูงกว่า 126 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร จะวินิจฉัยว่าเป็นโรคเบาหวาน [2]

นอกจากนี้การมีน้ำตาลในปัสสาวะยังขึ้นอยู่กับสภาวะการดูดกลับกลูโคสของไต ซึ่งคนปกติไม่ควรจะมีน้ำตาลในปัสสาวะ เพราะไตจะมีการดูดน้ำตาลกลับมาใช้อีกเมื่อมีระดับน้ำตาลในเลือดน้อยกว่า 180 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ในทางกลับกัน คนที่ป่วยเป็นโรคเบาหวานจะมีระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดมากเกินไปที่ไตจะสามารถดูดกลับมาใช้ได้ทัน และน้ำตาลกลูโคสก็就会被ขับออกมาอยู่ในปัสสาวะ การตรวจระดับน้ำตาลกลูโคสในปัสสาวะ ซึ่งใช้วินิจฉัยโรคเบาหวานได้ [3]

หลักการตรวจวัดกลูโคสที่นิยมใช้ในปัจจุบัน คือ อาศัยการเกิดปฏิกิริยาระหว่างกลูโคสกับเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส (glucose oxidase) ทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีและตรวจวัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี – วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV - Visible Spectrophotometer) ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีที่ได้รับการยอมรับ เนื่องจากมีความไวและความจำเพาะเจาะจงในการวิเคราะห์สูง แต่เอนไซม์กลูโคสออกซิเดสไม่มีความเสถียรมากพอจึงจำเป็นต้องทำการทดลองในสภาวะที่เหมาะสมเท่านั้นเพื่อไม่ให้เอนไซม์เสื่อมสภาพและนอกจากนี้เอนไซม์มีราคาที่สูงเกินไป [4]

ด้วยข้อจำกัดของการใช้เอนไซม์ในการตรวจวัดกลูโคส ทำให้ในปัจจุบันมีงานวิจัยต่างๆได้ใช้ออกุภาคทองระดับนาโนเพื่อการตรวจวัดปริมาณกลูโคส เนื่องจากออกุภาคทองระดับนาโนนั้นมีความเสถียรและมีสมบัติทางแสงที่เป็นเอกลักษณ์ สามารถทำการตรวจวัดจากการเทียบสีที่เปลี่ยนไปได้ด้วยตาเปล่าหรือตรวจวัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี – วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ยิ่งไปกว่านั้นการใช้ออกุภาคทองระดับนาโนในการตรวจวัดกลูโคสยังมีความจำเพาะเจาะจง เนื่องจากออกุภาคทองระดับนาโนเป็นตัวช่วยให้เห็นสีที่เปลี่ยนไปได้ชัดเจนโดยไม่ต้องใช้เอนไซม์ในการช่วยทำให้สีของสารละลายเปลี่ยน ดังนั้นสีที่เปลี่ยนไปจะเป็นไปตามปฏิกิริยาระหว่างหมู่ฟังก์ชันที่ติดกับออกุภาคทองระดับนาโนกับกลูโคสเท่านั้น

ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีความต้องการที่จะพัฒนาวิธีการตรวจวัดกลูโคสให้มีเสถียรภาพและมีประสิทธิภาพมากขึ้น โดยใช้ออกุภาคทองระดับนาโนที่สังเคราะห์ขึ้นตามวิธีของ Turkevich ในการตรวจวัดกลูโคสและพัฒนาร่วมกับเทคนิคการตรวจวัดด้วยหลักการสเปกโทรโฟโตเมทรี เพื่อให้ได้วิธีวิเคราะห์ที่มีความถูกต้องแม่นยำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1) เพื่อศึกษาวิธีการสังเคราะห์อนุภาคของระดับนาโนโดยใช้ Turkevich method
- 2) เพื่อศึกษาหลักการตรวจวัดกลูโคสด้วยอนุภาคของระดับนาโนที่ติดหมู่ฟังก์ชันด้วย 3-aminophenylboronic acid (APBA)
- 3) เพื่อประยุกต์หลักการที่ศึกษาไปใช้วิเคราะห์หาปริมาณกลูโคสในปัสสาวะ
- 4) เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการประยุกต์ใช้ตรวจวัดปริมาณกลูโคสในตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

เริ่มจากการทบทวนงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์อนุภาคของระดับนาโนและการประยุกต์ใช้อนุภาคของระดับนาโนในการตรวจวัดกลูโคส รวมทั้งทบทวนหลักการของเทคนิค ยูวี - วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตเมทรี จากนั้นวางแผนในการทำการทดลองโดยกำหนดสภาวะที่เหมาะสมและทำการทดลองโดยเริ่มจากทำการสังเคราะห์อนุภาคของระดับนาโนให้ได้คุณลักษณะที่ต้องการตามด้วยศึกษาหลักการตรวจวัดกลูโคสโดยใช้อนุภาคของระดับนาโนที่ติดหมู่ฟังก์ชันด้วย APBA จากนั้นจึงนำอนุภาคของระดับนาโนที่สังเคราะห์ได้มาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคสด้วยเทคนิค ยูวี - วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตเมทรีหลังจากทำการทดลองแล้วจึงศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการวิเคราะห์ จะได้ประเมินคุณลักษณะของวิธีวิเคราะห์ แล้วสรุปผลการทดลองและนำมาอภิปรายผลจากนั้นจึงทำการเผยแพร่งานวิจัยต่อไป

จากขอบเขตของงานวิจัยทั้งหมด สามารถเขียนเป็นขั้นตอนได้ดังนี้

- 1) ทบทวนงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์และการประยุกต์ใช้อนุภาคของระดับนาโนในการตรวจวัดกลูโคส
- 2) ศึกษาหลักการของเครื่องยูวี - วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV - Visible Spectrophotometer)
- 3) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์อนุภาคของระดับนาโนและการประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดกลูโคส
- 4) สังเคราะห์อนุภาคของระดับนาโนให้ได้ตามคุณลักษณะที่ต้องการ
- 5) ศึกษาหลักการตรวจวัดกลูโคสโดยใช้อนุภาคของระดับนาโนที่ติดหมู่ฟังก์ชันด้วย APBA
- 6) นำอนุภาคของระดับนาโนที่สังเคราะห์ได้มาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส
- 7) ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่องานวิจัย
- 8) ประเมินคุณลักษณะของวิธีวิเคราะห์
- 9) สรุปผลการทดลองและอภิปราย
- 10) เผยแพร่งานวิจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) สามารถสังเคราะห์อนุภาคของระดับนาโนโดยใช้ Turkevich method
- 2) ได้วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคสในปัสสาวะและในตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่ โดยอาศัยหลักการทำปฏิกิริยาระหว่างกลูโคสกับอนุภาคของระดับนาโนที่ติดฟังก์ชันด้วย APBA และติดตามด้วยเครื่อง ยูวี - วิซิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

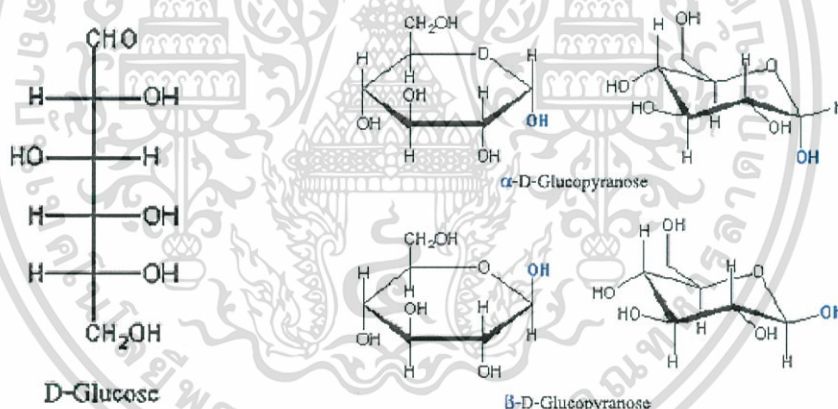
2.1 กลูโคสและความสำคัญในการตรวจหากกลูโคสในปัสสาวะ

2.1.1 กลูโคส [5,6]

กลูโคส (Glucose) มีสูตรโครงสร้าง $C_6H_{12}O_6$ เป็นคาร์โบไฮเดรตประเภทน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวหรือโมโนแซ็กคาไรด์ (Monosaccharide) ที่สำคัญและพบมากที่สุดในธรรมชาติ จัดเป็นน้ำตาลอัลโดส (Aldose) ได้มาจากการสังเคราะห์แสงของพืช ผัก ผลไม้

น้ำตาลกลูโคสที่พบอยู่ในรูป D-glucose เป็นน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar) โดยมีชื่อเรียกทางการค้าว่า เดกโทรส (Dextrose) และทางการแพทย์เรียก น้ำตาลในเลือด (Blood sugar)

น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญเพราะร่างกายสามารถนำเอาไปใช้ได้ทันที โดยในเลือดนั้นจะมีกลูโคสประมาณ 8 % และจะพบกลูโคสในปัสสาวะน้อยมาก (< 2%) ถ้าพบกลูโคสในปัสสาวะมากบ่งบอกว่าบุคคลนั้นอาจเป็นโรคเบาหวานได้



รูป 2.1 แสดงโครงสร้างน้ำตาลกลูโคส

ที่มา : www.oci.unizh.ch/.../AC_BII/Kap14/kap14.html (สืบค้นเมื่อ 26 ธันวาคม 2557)

2.1.2 ความสำคัญในการตรวจหากกลูโคสในปัสสาวะ [7]

การตรวจปัสสาวะ (Urinalysis) เป็นการตรวจส่วนประกอบที่มีอยู่ในปัสสาวะ ซึ่งเป็นของเสียที่ขับออกจากไต รวมถึงแร่ธาตุ ของเหลว และสารจากเลือดที่มารวมอยู่ในปัสสาวะ ซึ่งปกติกลูโคสนั้นจะพบในเลือดและจะพบน้อยมากในปัสสาวะ เมื่อระดับน้ำตาลในเลือดสูง คนที่เป็นโรคเบาหวานไม่สามารถควบคุมระดับน้ำตาลได้ (Uncontrolled diabetes) โดยน้ำตาลจะถูกขับออกมาพร้อมกับปัสสาวะ การตรวจหากกลูโคสในปัสสาวะจึงสามารถที่จะวินิจฉัยโรคเบื้องต้นได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 วิธีมาตรฐานในการตรวจวัดกลูโคส

2.2.1 การใช้แถบตรวจปัสสาวะ (Urine Test Strip) [8]

จัดเป็นวิธีตรวจคัดกรองในเบื้องต้น แถบตรวจปัสสาวะจะประกอบด้วยพื้นที่เล็กๆที่เคลือบด้วยน้ำยาที่จะทำปฏิกิริยากับสารที่ออกมาจากปัสสาวะ แล้วเปลี่ยนเป็นระดับสี โดยดูเทียบกับแถบเทียบสี ระดับความเข้มของสีจะแปรผันตามปริมาณของสารชีวเคมีที่ต้องการตรวจ



รูปที่ 2.2 แสดงแถบตรวจปัสสาวะและแถบสีเปรียบเทียบผลการตรวจ
ที่มา : <http://www.biosynergypro.com/bioselftest-with-urispec.html>
(สืบค้นเมื่อ 24 มกราคม 2558)

2.2.2 การใช้ปฏิกิริยาทางเอนไซม์ [9]

2.2.2.1 Hexokinase เป็นเอนไซม์ที่ใช้ทำปฏิกิริยาการย้ายหมู่ฟอสเฟตจากโมเลกุลของ ATP ไปยังน้ำตาลเฮกโซส โดยจะเกิดปฏิกิริยา phosphorylates glucose ให้เป็น glucose-6-phosphat dehydrogenase เกิดการเปลี่ยนแปลง NAD ให้เป็น end-product คือ NADH ที่สามารถวัดระดับและคำนวณกลับเป็นระดับน้ำตาลในเลือดได้

2.2.2.2 Glucose oxidase (GO) เป็นเอนไซม์ที่ใช้ทำปฏิกิริยาใน glucose meters โดยจะเกิดปฏิกิริยา oxidation glucose ได้เป็น gluconic acid และ hydrogen peroxide (H₂O₂) ซึ่งเป็น end-product ที่ถูกวัดเพื่อแสดงระดับน้ำตาลได้

2.2.2.3 Glucose-l-dehydrogenase (GDH) เป็นเอนไซม์ที่ใช้ทำปฏิกิริยาใน glucose meter โดย GDH จะ oxidized glucose ได้เป็น gluconolactone แล้วเกิดการเปลี่ยนแปลง NAD เป็น end-product คือ NADH ที่ถูกวัดเพื่อแสดงระดับน้ำตาลในเลือดในการทำงานของ GDH enzyme จะต้องอาศัย co-factors มี 3 ชนิด ได้แก่ FAD, NAD และ PQQ ซึ่งแต่ละชนิดมีความจำเพาะที่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 นาโนเทคโนโลยีและอนุภาคทองระดับนาโน (AuNPs)

2.3.1 นาโนเทคโนโลยี [10,11]

นาโนเทคโนโลยีเป็นการศึกษาเกี่ยวกับอนุภาคของอะตอมหรือโมเลกุลที่มีขนาดอยู่ในระดับนาโนเมตร (ความยาว 1 นาโนเมตร เท่ากับ 1 ในพันล้านเมตร หรือ 10^{-9} เมตร) เป็นการศึกษาเกี่ยวกับอนุภาคที่มีขนาดเล็กในระดับนาโนเป็นสิ่งที่ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าหรือแม้แต่การใช้กล้องจุลทรรศน์ธรรมดา การที่จะสามารถมองเห็นขนาดเล็กระดับ 1 นาโนเมตรได้นั้นจะต้องใช้กล้องจุลทรรศน์ที่มีกำลังขยายสูงมาก เช่น กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนหรือกล้องจุลทรรศน์ชนิดใหม่ๆ ที่ถูกสร้างขึ้นมาเพื่อใช้ในการศึกษาและวิจัยทางด้านนาโนเทคโนโลยีโดยเฉพาะ

สารที่อยู่ในช่วงนาโนจะมีคุณสมบัติพิเศษต่างจากสารที่มีขนาดใหญ่ โดยส่งผลให้สมบัติทางไฟฟ้า สมบัติทางแม่เหล็ก สมบัติเชิงเคมีและสมบัติทางแสงของอนุภาคเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมและสามารถนำมาประยุกต์ใช้ประโยชน์ในสาขาต่างๆ เช่น การสื่อสาร พลังงาน เครื่องใช้ไฟฟ้า อาหาร ยา และเครื่องสำอาง เป็นต้น สำหรับทางการแพทย์นั้น นาโนเทคโนโลยีสามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้กับการวินิจฉัย และการถ่ายภาพ เป็นต้น

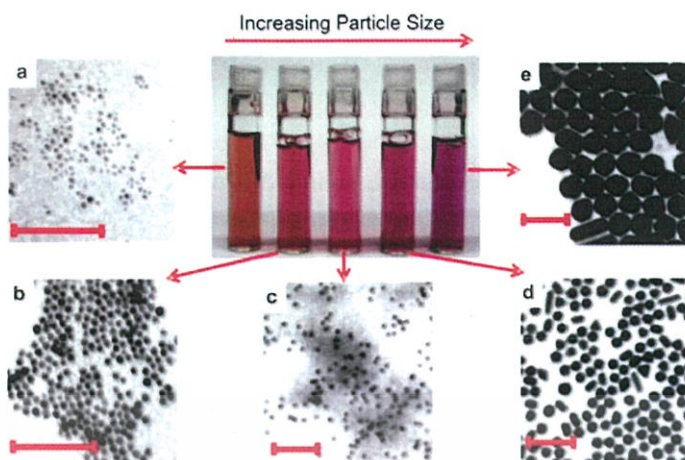
2.3.2 อนุภาคทองระดับนาโน (AuNPs) [10,12]

อนุภาคโลหะระดับนาโน คือ อนุภาคระดับนาโนของสารอนินทรีย์ชนิดหนึ่ง ตัวอย่างเช่น อนุภาคทองระดับนาโน (AuNPs) อนุภาคเงินระดับนาโน (AgNPs) และอนุภาคทองแดงระดับนาโน (CuNPs) เป็นต้น

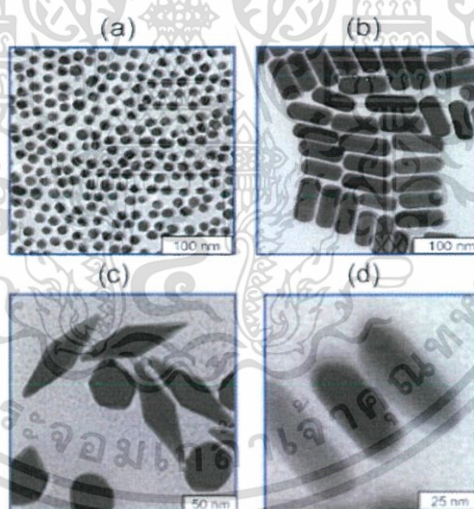
งานวิจัยนี้ได้เลือกทำการศึกษาอนุภาคทองระดับนาโนในการตรวจวัดกลูโคสในปัสสาวะ ซึ่งอนุภาคทองระดับนาโนสามารถสังเคราะห์ได้ง่ายในช่วงขนาดที่กว้างและมีความเป็นพิษต่ำกว่าอนุภาคระดับนาโนชนิดอื่น และยังมีคุณสมบัติที่น่าสนใจ คือ สีที่เป็นลักษณะจำเพาะ ซึ่งบ่งบอกถึงลักษณะของอนุภาคระดับนาโน

ทอง (Gold, Au) มีสีเหลือง เนื่องจากทองนั้นดูดกลืนแสงสีน้ำเงินที่อยู่ในช่วงปลายของความยาวคลื่นที่สามารถมองเห็นได้ แต่ถ้าขนาดของทองเล็กลงไปเรื่อยๆ จนมีขนาดอนุภาคเล็กกว่าความยาวคลื่นที่มากกระทบมากๆ จะทำให้ปรากฏการณ์ที่เรียกว่า “เซอร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์” (Surface Plasmon Resonance, SPR) ซึ่งจะทำให้อนุภาคทองเปลี่ยนไปดูดกลืนแสงสีเขียว (ความยาวคลื่นประมาณ 520 นาโนเมตร) จะส่งผลให้อนุภาคทองระดับนาโนมีสีแดงทับทิม (ruby red) ถ้าอนุภาคทองระดับนาโนมีขนาดใหญ่ขึ้นก็จะทำให้ทองเปลี่ยนไปเป็นสีอื่นได้ ตั้งแต่สีชมพูจนถึงสีม่วงนอกจากขนาดของอนุภาคแล้ว สีของคอลลอยด์ยังขึ้นอยู่กับรูปร่างของอนุภาคอีกด้วย

อนุภาคทองระดับนาโนสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการเป็นไบโอเซ็นเซอร์ตรวจจับสารชีวภาพชนิดต่างๆ หรือนำไปใช้ทางด้านออปโตอิเล็กทรอนิกส์



รูปที่ 2.3 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)
ที่มา : <http://www.chimica.unipd.it/fabrizio.mancin/pubblica/Nanobiotech/VII%20lezione.pdf> (สืบค้นเมื่อ 12 มีนาคม 2558)



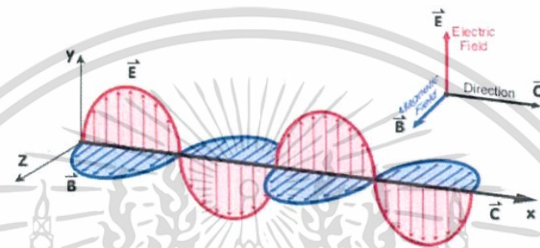
รูปที่ 2.4 แสดงรูปร่างแบบต่างๆของอนุภาคทองระดับนาโน (ภาพ a รูปทรงกลม, ภาพ b gold nanorods, ภาพ c รูปพีระมิดคู่ และภาพ d อนุภาคเงินล้อมรอบ gold nanorods)
ที่มา : <http://www.chimica.unipd.it/fabrizio.mancin/pubblica/Nanobiotech/VII%20lezione.pdf> (สืบค้นเมื่อ 12 มีนาคม 2558)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 ทฤษฎีเซอร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์ (Surface Plasmon Resonance, SPR)

2.4.1 การเกิดคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า [13]

ธรรมชาติของแสง ประพฤติตัวเป็นได้ทั้ง คลื่น และ อนุภาค เมื่อก้าวถึงแสงในคุณสมบัติความเป็นคลื่น เรียกว่า คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (Electromagnetic wave) ซึ่งประกอบด้วย สนามแม่เหล็กและสนามไฟฟ้าซึ่งทำมุมตั้งฉากและเคลื่อนที่ไปในอากาศด้วยความเร็ว 3×10^8 m/s แต่เมื่อก้าวถึงแสงในคุณสมบัติของอนุภาค เรียกว่า โฟตอน (Photon) เป็นอนุภาคที่ไม่มีมวลแต่มีพลังงาน



รูปที่ 2.5 แสดงสนามแม่เหล็กและสนามไฟฟ้าซึ่งทำมุมตั้งฉาก

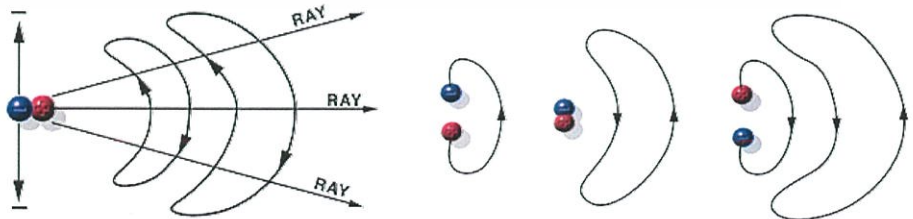
ที่มา : http://www.myfirstbrain.com/student_view.aspx?ID=76375

(สืบค้นเมื่อ 7 พฤษภาคม 2558)

การเกิดคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า มี 3 วิธี ดังนี้

1. ทำให้สนามไฟฟ้าเปลี่ยนแปลง
2. ทำให้สนามแม่เหล็กเปลี่ยนแปลง
3. เร่งให้ประจุไฟฟ้าเคลื่อนที่กลับไปกลับมา ทำให้เกิดสนามไฟฟ้าและสนามแม่เหล็ก (ขณะที่ประจุเคลื่อนที่ด้วยความเร่งหรือความหน่วง จะแผ่คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าออกมา)

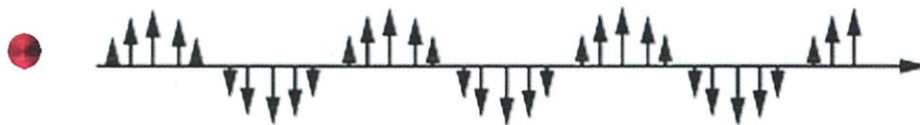
ดังรูปที่ 2.6



รูปที่ 2.6 แสดงการเกิดคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าเกิดจากการแกว่งของประจุบวกและประจุลบ ทำให้สนามไฟฟ้าเกิดการเปลี่ยนแปลง ซึ่งการแกว่งของประจุ จะมีแรงระหว่างประจุเกิดขึ้น โดยทิศทางของแรงจากประจุบวกไปประจุลบ ดังลูกศรที่จะแทนทิศทางและขนาดของแรง และแรงจะมีทิศทางตั้งฉากกับทิศทางการเคลื่อนที่ของคลื่น

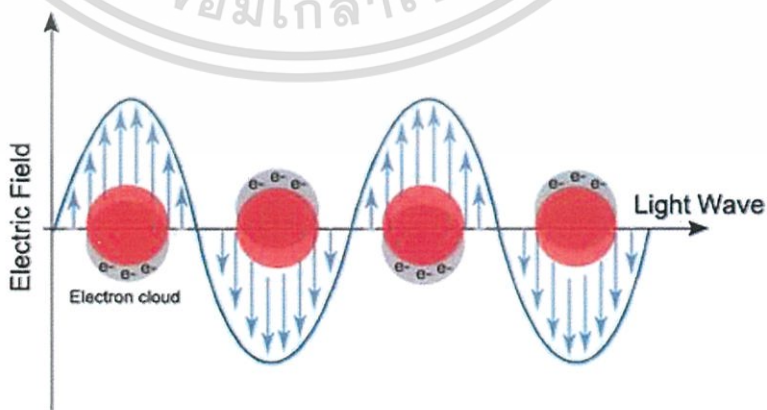


รูปที่ 2.7 แสดงทิศทางและขนาดของแรงจากประจุบวกไปประจุลบ

2.4.2 การเกิดเซอร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์ (Surface Plasmon Resonance, SPR) [14]

เซอร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์ คือ การสั่นพ้องของกลุ่มหมอกอิเล็กตรอนบนพื้นผิวของอนุภาค โดยจะสั่นพ้องไปตามคลื่นแสงที่มาตกกระทบ คลื่นแสงสามารถทำให้อิเล็กตรอนเกิดการสั่นพ้องได้ เนื่องจากคลื่นแสงเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าชนิดหนึ่ง ซึ่งเกิดจากการเคลื่อนที่ของประจุบวกและประจุลบ เมื่อเกิดการเคลื่อนที่ของประจุก็จะมีแรงดึงดูดระหว่างประจุ โดยอิเล็กตรอนจะเป็นตัวที่วิ่งรอบประจุบวก จะเคลื่อนที่ลงและขึ้นไปตามประจุบวกไปเรื่อยๆ คลื่นสามารถไปได้ทุกทิศทาง เมื่อประจุบวกวิ่งไป อิเล็กตรอนก็จะวิ่งตาม ทำให้เกิด Psi wave เกิดขึ้น โดยที่ทิศทางของแรงนั้นจากประจุบวกไปประจุลบ

ถ้าอิเล็กตรอนวิ่งขึ้นทิศทางของแรงก็จะวิ่งขึ้นไปหาอิเล็กตรอน เมื่อนำมาเขียนเป็นระยะกระจัดจะเห็นว่า เส้นแรงจะค่อยๆขึ้นและลง ดังนั้นปลายของลูกศรมีคุณสมบัติเป็นลบ เพราะอิเล็กตรอนนั้นอยู่ด้านบน เมื่อปลายของลูกศรมีคุณสมบัติเป็นลบ จะทำให้เกิดการเคลื่อนที่หนียอดคลื่น (ถ้ายอดคลื่นขึ้น อิเล็กตรอนก็จะวิ่งลง แต่ถ้ายอดคลื่นลง อิเล็กตรอนก็จะวิ่งขึ้น) การวิ่งขึ้นและลงนี้ เรียกว่า การสั่นพ้อง โดยจะสั่นพ้องไปกับความยาวคลื่นที่มาตกกระทบ



รูปที่ 2.8 แสดงกลุ่มหมอกของอิเล็กตรอน [14]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซอร์เฟจ พลาสมอน เรโซแนนซ์ จะเกิดขึ้นก็ต่อเมื่อ ขนาดของอนุภาคเล็กกว่าความยาวคลื่น ในอัตราส่วนรัศมีต่อความยาวคลื่นน้อยกว่า 0.1 ก็จะทำให้เกิดการสั่นพ้องของอิเล็กตรอนกับความยาวคลื่นได้

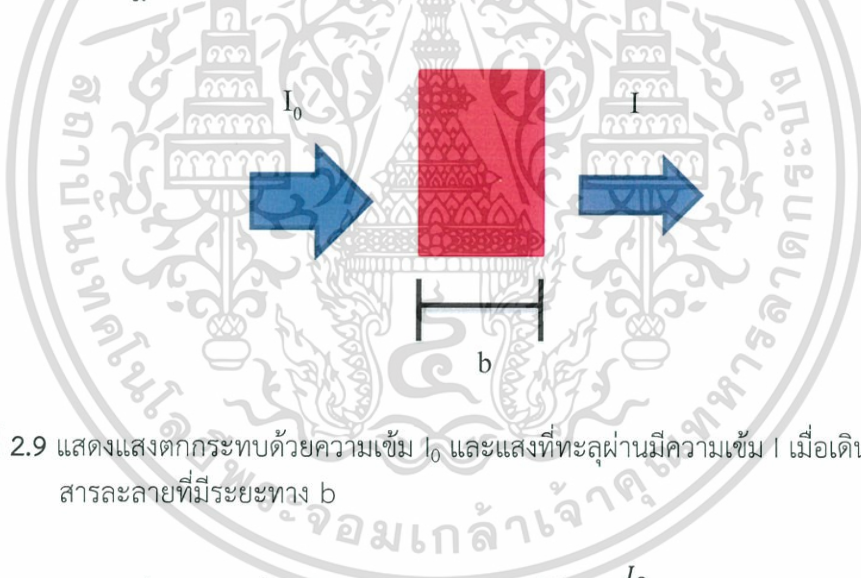
$$\frac{R}{\lambda} < 0.1$$

โดยที่ R คือ รัศมีของอนุภาคระดับนาโน
 λ คือ ความยาวคลื่นแสง

ถ้า $R > \lambda$ จะไม่เกิดเซอร์เฟจ พลาสมอน เรโซแนนซ์ เพราะความยาวคลื่นไม่สามารถไปเหนี่ยวนำให้เกิดการสั่นพ้องของอิเล็กตรอนได้

2.5 เครื่องมือ-วิธีเบสเปกโทรโฟมิเตอร์

2.5.1 กฎของเบียร์-แลมเบิร์ต (Beer-Lambert's law) [15]



รูปที่ 2.9 แสดงแสงตกกระทบด้วยความเข้ม I_0 และแสงที่ทะลุผ่านมีความเข้ม I เมื่อเดินทางทะลุผ่านสารละลายที่มีระยะทาง b

$$\text{ค่าการทะลุผ่าน (Transmittance)} \quad T = \frac{I_0}{I} \quad (1)$$

$$\text{ค่าการดูดกลืน (Absorbance)} \quad A = \log \frac{I_0}{I} \quad (2)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณของเทคนิคนี้อาศัยหลักการวิเคราะห์ตามกฎของ Beer-Lambert's Law ซึ่งปริมาณความเข้มข้นของสารตัวอย่างในสารละลายจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับค่าการดูดกลืน (Absorbance) ของสารละลายนั้น ดังสมการ (3)

$$A = \epsilon bc \quad (3)$$

เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืน (absorbance)

ϵ คือ สัมประสิทธิ์การดูดกลืน (absorption coefficient หรือ absorptivity)

b คือ ระยะทางที่รังสีเคลื่อนที่ในสารละลาย (path length)

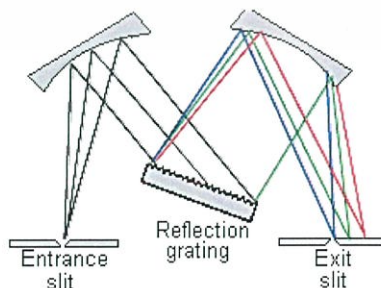
c คือ ความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง ในทางปฏิบัติการนิยมใช้ค่าการดูดกลืน เนื่องจากมีความสัมพันธ์แบบเชิงเส้น ซึ่งหาได้ง่ายกว่าเปอร์เซ็นต์ของความสามารถในการทะลุผ่าน

2.5.2 องค์ประกอบหลักของเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ [16]

มีอยู่ 5 ส่วนด้วยกัน ดังนี้

1. แหล่งกำเนิดแสง (light source) ให้แสงที่มีความคงที่และสม่ำเสมอตลอดช่วงการใช้งาน โดยที่ความยาวคลื่นในช่วงอัลตราไวโอเล็ตจะใช้หลอดดีบุกเรียม (deuterium lamp) เป็นแหล่งกำเนิดแสง ซึ่งให้แสงในช่วง 185-375 nm ส่วนหลอดทังสเตน (tungsten filament lamp) จะให้ความยาวคลื่นครอบคลุมช่วงแสงที่มองเห็นได้ ตั้งแต่ 320-2500 nm ซึ่งในงานวิจัยนี้จะใช้ช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 400-800 nm

2. โมโนโครมาเตอร์ (monochromator) เป็นส่วนที่ใช้แยกความยาวคลื่นที่ออกมาจากแหล่งกำเนิดแสง ซึ่งเป็นแสงที่มีหลายๆ ความยาวคลื่น (polychromatic wavelength) ให้เป็นความยาวคลื่นเดี่ยว (monochromatic wavelength) โดยทั่วไปส่วนเลือกความยาวคลื่นนั้นจะประกอบไปด้วย สลิต (slit) ที่จะจำกัดให้แสงผ่านเข้าไปในกรอบการใช้งานที่ต้องการ จากนั้น กระจกจะนำแสงเข้าระบบไปสู่ เกรตติ้ง (grating) สะท้อนแสงซึ่งมีลักษณะเป็นร่องเล็กๆ ขนานกันจำนวนมาก แสงจะตกกระทบลงบนผิวหน้าของร่อง แล้วสะท้อนออกมาที่มุมต่างๆ เฉพาะความยาวคลื่นที่เลือกเท่านั้นจึงจะผ่าน สลิต (slit) ไปสู่สารตัวอย่าง



รูปที่ 2.10 แสดงโมโนโครมาเตอร์ [16]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ภาชนะใส่สาร (cell) หรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า คิวเวทท์ (cuvette) มีหลายแบบหลายขนาดขึ้นอยู่กับการใช้งาน หลักสำคัญในการเลือกใช้ คือ การวัดในช่วงแสงอัลตราไวโอเล็ตจะต้องใช้เซลล์ที่ทำจากควอตซ์ (quartz) เท่านั้น เนื่องจากแก้วสามารถดูดกลืนแสงในช่วงอัลตราไวโอเล็ตได้ ส่วนเซลล์ที่ทำจากแก้วจะใช้วัดในช่วงแสงที่มองเห็นได้ และสามารถใส่เซลล์ที่ทำจากควอตซ์ในการวัดแสงที่มองเห็นได้เช่นกัน แต่จะมีราคาแพงกว่าแก้วมาก

4. ตัวตรวจวัด (detector) ทำหน้าที่แปลงพลังงานแสงให้เป็นสัญญาณไฟฟ้า โดยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ส่วนใหญ่นิยมใช้ตัวตรวจจับสัญญาณ 2 ชนิดคือ

4.1 หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ (photomultiplier tube ; PMT)

หลอด PMT ประกอบไปด้วยแคโทด (cathode) ที่ฉาบผิวด้วยสารที่สามารถให้อิเล็กตรอนได้เมื่อถูกแสงจำนวน 9 ชุด เรียกว่า ไดโนด (dynode) แต่ละไดโนดจะมีศักย์ไฟฟ้าสูงขึ้นเรื่อยๆ เมื่อแสงตกกระทบกับไดโนดตัวที่หนึ่งสารที่ฉาบผิวจะเกิดอิเล็กตรอนขึ้น แล้ววิ่งไปกระทบไดโนดจนครบทั้งหมด จะทำให้ปริมาณอิเล็กตรอนจะเพิ่มขึ้นถึง 10^6 - 10^7 เท่า แล้วจึงชนแอโนดให้กระแสไฟฟ้าออกมาเข้าเครื่องขยายสัญญาณต่อไป

4.2 โฟโตไดโอดอาร์เรย์ (photodiode arrays ; PDA) ตัวตรวจจับ

สัญญาณชนิดนี้สามารถจับสัญญาณได้ครอบคลุมทั้งสเปกตรัมโดยใช้ไดโอดมาเรียงต่อกันเป็นแถว ซึ่งสามารถวัดครอบคลุมสเปกตรัมได้ตั้งแต่ 200-1100 nm ตัวตรวจจับสัญญาณนี้ประกอบไปด้วยโฟโตไดโอดและตัวเก็บประจุ (capacitor) ประมาณ 200- 4000 ตัว เรียงต่อกัน

5. ส่วนบันทึกและแปรผลสัญญาณ (recorder and processor) ทำหน้าที่ขยายสัญญาณ และแปรผลสัญญาณให้ออกมา



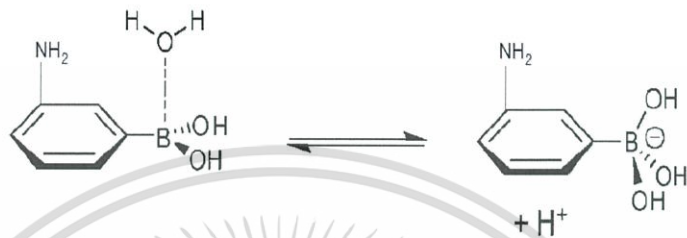
รูปที่ 2.11 แสดงองค์ประกอบหลักของเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟมิเตอร์ [16]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 หลักการตรวจวัด

2.6.1 โครงสร้างของ 3-aminophenylboronic acid (APBA)

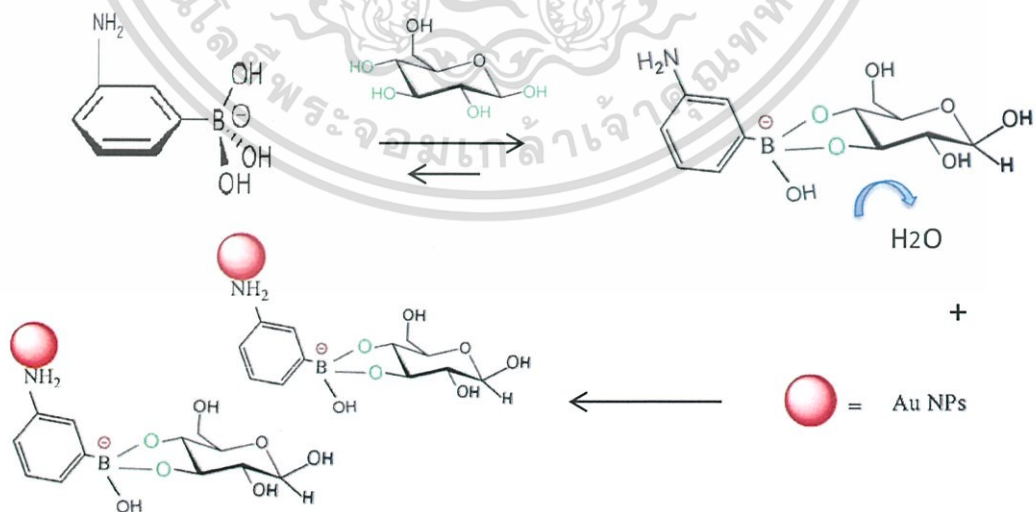
เมื่อ 3-aminophenylboronic acid ละลายอยู่ในน้ำ โดยจะเกิดโครงสร้างได้ 2 แบบ ซึ่งสามารถผันกลับได้ ดังรูปที่ 2.10



รูปที่ 2.12 แสดงโครงสร้างของ 3-aminophenylboronic acid ที่ละลายน้ำ

2.6.2 การศึกษาการตรวจวัดกลูโคสที่พีเอช 9

ในการศึกษาการตรวจวัดกลูโคสที่พีเอช 9 โดย APBA ที่อยู่ในรูปของแอนไอออนจะทำปฏิกิริยากับสารละลายกลูโคสก่อน จากรูปที่ 2.11 จะเห็นว่าสารละลายกลูโคสจะเข้าไปทำปฏิกิริยากับ APBA ที่หมู่ boronic เกิดไฮโดรไลซิสของน้ำ จากนั้นจึงนำไปทำปฏิกิริยาต่อกับสารละลายอนุภาคทองระดับนาโน โดยสารละลายอนุภาคทองนาโนนั้นจะเข้าไปเกาะที่หมู่เอมีน ($-NH_3^+$) ของ 3-aminophenylboronic acid เนื่องจากประจุลบที่เกิดขึ้นตรงหมู่ boronic ทำให้ไม่เกิดการรวมตัวกันของอนุภาคทองระดับนาโน สีของสารละลายจึงเป็นสีแดง

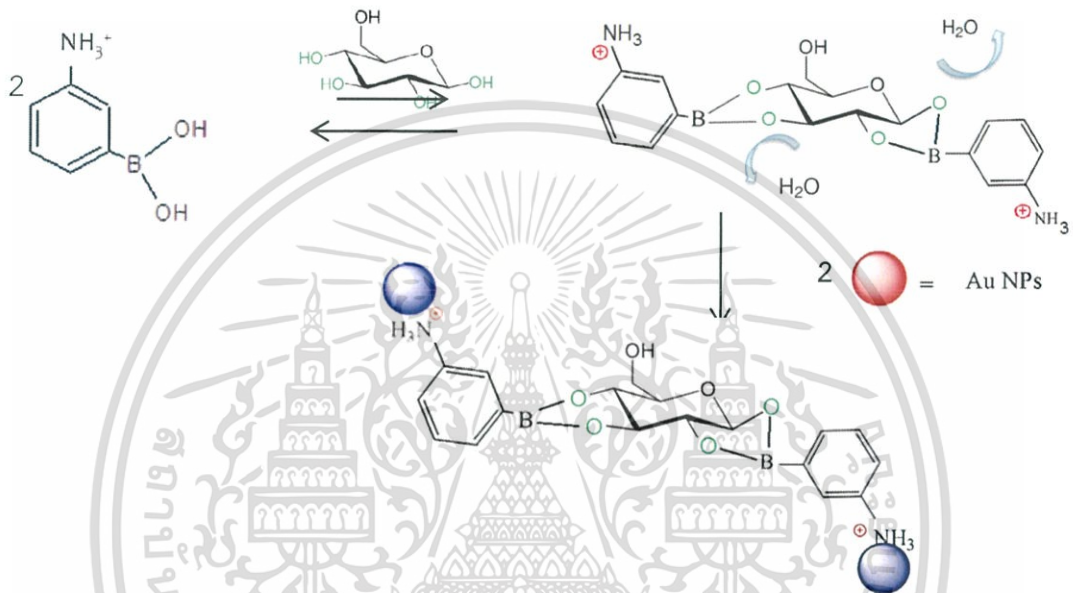


รูปที่ 2.13 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาของ APBA กับสารละลายกลูโคส และอนุภาคทองระดับนาโนที่พีเอช 9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

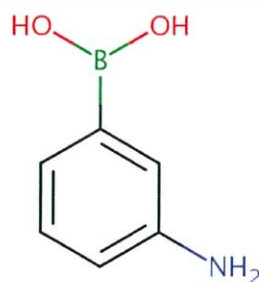
2.6.3 การศึกษาการตรววจัดกลูโคสที่พีเอช 6

ในการศึกษาการตรววจัดกลูโคสที่พีเอช 6 โดยจะให้ APBA ทำปฏิกิริยากับสารละลายกลูโคสก่อน จะเห็นว่า APBA ที่อยู่ในสถานะเบส 2 โมเลกุลจะทำปฏิกิริยากับสารละลายกลูโคส 1 โมเลกุล เกิดไฮโดรไลซิสออกมาเป็นน้ำ 2 โมเลกุล จากนั้นเมื่อนำไปทำปฏิกิริยากับสารละลายอนุภาคของระดับนาโน สารละลายอนุภาคของนาโนจะเข้าไปเกาะที่หมู่เอมีน $(-\text{NH}_3^+)_2$ ตำแหน่งใน 1 โมเลกุล ทำให้เกิดการรวมตัวกัน สีของสารละลายอนุภาคของระดับนาโนจึงเปลี่ยนสีจากสีแดงเป็นสีม่วง ดังรูปที่ 2.12



รูปที่ 2.14 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาของ APBA กับสารละลายกลูโคส และอนุภาคของระดับนาโนที่พีเอช 6

โดยค่า pKa ของ 3-aminophenylboronic acid (APBA) มีค่าเท่ากับ 8.86 จากโครงสร้างในรูปที่ 2.13 จะเห็นว่า APBA นั้นจะประกอบไปด้วยหมู่ boronic และหมู่อะมิโน ซึ่งหมู่อะมิโนนั้นจะมีค่า pKa มากกว่าหมู่ boronic ทำให้เมื่อ APBA ทำปฏิกิริยากับสารละลายกลูโคส จึงทำให้กลูโคสเข้าไปทำปฏิกิริยาที่หมู่ boronic ได้ง่ายกว่า



รูปที่ 2.15 แสดงโครงสร้างของ 3-aminophenylboronic acid (APBA)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Y. P. Li และคณะ [17] ได้พัฒนาวิธีการอย่างง่ายสำหรับการหาปริมาณกลูโคสด้วย เทคนิค คัลเลอรีเมทรี โดยอาศัยการเกิดอันตรกิริยาระหว่างอนุภาคทองระดับนาโนกับ 3 - aminophenylboronic acid (APBA) จะประพุดิตัวเป็น photochemistry เมื่อมีการเติมกลูโคสลงไป ในสภาวะที่แตกต่างกัน สำหรับช่วงความเป็นเส้นตรงของความเข้มข้นของกลูโคสที่ พีเอช 6 คือ 0.1 - 9.8 มิลลิโมลต่อลิตร ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ เท่ากับ 64 ไมโครโมลต่อลิตร และ ช่วงความเป็นเส้นตรงของความเข้มข้นของกลูโคสที่พีเอช 9 คือ 0 - 4.5 มิลลิโมลต่อลิตร ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ เท่ากับ 48 ไมโครโมลต่อลิตร ตามลำดับ วิธีนี้ถูกนำไปประยุกต์ใช้สำหรับการตรวจวัดกลูโคสในตัวอย่างน้ำลายเทียมได้เป็นผลสำเร็จ อีกทั้งมีข้อดีคือ ใช้งานง่าย ราคาถูก และไม่ต้องใช้เอนไซม์ในการตรวจวัด

K. Rae Lim และคณะ [18] พบว่า อนุภาคทองระดับนาโน (ขนาด 10 นาโนเมตร) จะเกิดการรวมตัวกับ thiol-derivatized mannose จึงนำไปพัฒนาวิธีคัลเลอรีเมทรี สำหรับการตรวจวัด กลูโคสในซีรัมมนุษย์ ซึ่ง Concanavalin A (Con A) กับ mannose-stabilized gold nanoparticles ทำให้เกิดการรวมตัวและเกิด red shift มีค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร สารละลายที่มีกลูโคสจะขัดขวางการรวมตัวของ Con A ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงลดลงตามความเข้มข้นของกลูโคสที่เพิ่มขึ้น วิธีนี้มีความจำเพาะเจาะจงในการตรวจวัดปริมาณกลูโคสในช่วงความเป็นเส้นตรงที่ความเข้มข้น 500 - 4000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีขีดจำกัดการตรวจวัด 363 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยวิธีคัลเลอรีเมทรีนี้นำมาประยุกต์ใช้สำหรับหาปริมาณกลูโคสในตัวอย่างซีรัมของมนุษย์ และสามารถรายงานความเข้มข้นได้ใกล้เคียงกับค่ามาตรฐาน สามารถประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดระดับกลูโคสในเลือดของมนุษย์ได้สำเร็จ สามารถวินิจฉัยโรคเบาหวานได้ โดยปราศจากการใช้เอนไซม์

N. J. Lang และคณะ [19] รายงานว่า อนุภาคทองระดับนาโนสามารถออกซิไดซ์กลูโคสได้ โดยจะเกิด ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และ gluconic acid ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้นี้จะเหมือนกับการใช้ เอนไซม์กลูโคสออกซิเดส (GOx) ในงานวิจัยนี้อนุภาคทองระดับนาโนจะเป็น nano - enzyme และ ใช้วิธีคัลเลอรีเมทรี ซึ่งสีของ nanoceria จะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง โดยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่เกิดขึ้น ระหว่างการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลูโคส นอกจากนี้ ปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลูโคสจะเกิดซ้ำ ที่พีเอชต่ำมาก จากงานวิจัยได้ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์ พบว่า เวลาที่เหมาะสมในการทดลอง คือ 30 นาที อุณหภูมิที่เหมาะสมในการทดลอง คือ 25 - 50 องศาเซลเซียส และพีเอช ที่เหมาะสมในการทดลอง คือ 8 แต่วิธีนี้ไม่เหมาะสำหรับการตรวจวัดกลูโคสโดยตรง

G. Palazzo และคณะ [20] ในงานวิจัยนี้ใช้อนุภาคทองระดับนาโนเป็น Colorimetric Reporters สำหรับการตรวจวัดน้ำตาล ในการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโน จะมีกลูโคสเป็น reducing agent ในเงื่อนไขที่แตกต่างกัน Pink assay และ Blue assay ของอนุภาคระดับนาโนใช้ วิธีคัลเลอรีเมทรีในการตรวจวัด Pink assay ขึ้นอยู่กับน้ำตาลที่เป็นตัวช่วยในการสังเคราะห์ทางเคมีของอนุภาคระดับนาโนและยังแสดงถึงการหาปริมาณ reducing sugar ทั้งหมด (รวมซูโครส) ด้วยวิธี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คัลเลอร์เมทริกอย่างง่าย มีค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด 10 โมลต่อลิตร ส่วน Blue assay จะขึ้นอยู่กับสารสังเคราะห์อนุภาคของระดับนาโนโดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา คือ เอนไซม์กลูโคสออกซิเดส ซึ่งมีความจำเพาะเจาะจงกับกลูโคส มีค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด 5 โมลต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีดั้งเดิมที่มีการใช้ทั้งเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสและเปอร์ออกไซด์ ในการตรวจวัดด้วยวิธีทางแสง จะใช้เอนไซม์เพียงชนิดเดียวเท่านั้นและไม่มีการเปลี่ยนแปลงของสี เนื่องจากอนุภาคของระดับนาโนมีความเสถียร

Y. Ma และคณะ [21] ในงานวิจัยนี้ใช้ 3 - aminophenylboronic acid (3 - APBA) เป็น reductive agent และ protective agent ในการสังเคราะห์อนุภาคของระดับนาโนและเกิดอันตรกิริยากับ polyvinyl alcohol (PVA) ในการตรวจวัดหาปริมาณกลูโคส พบว่าค่าการดูดกลืนแสงจะลดลงตามความเข้มข้นของกลูโคสที่เพิ่มขึ้น

ตารางสรุปงานวิจัยที่เกี่ยวข้องเป็นดังนี้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เทคนิค	สารวิเคราะห์ และตัวอย่าง	หมู่ฟังก์ชัน/ เอนไซม์ที่ติดบน อนุภาคของระดับนาโน	ช่วงความเป็นเส้นตรง	ค่าความเข้มข้นต่ำสุด	เอกสารอ้างอิง
คัลเลอริเมตรี	กลูโคส	3-aminophylboronic acid (APBA)	0-4.5 mmol/L	64 μ M/L	[17]
คัลเลอริเมตรี	กลูโคสในซีรัม มนุษย์	Concanavalin A (Con A)	500-4000 μ g/ml	363 μ g/ml	[18]
คัลเลอริเมตรี	กลูโคส	nano-enzyme	-	-	[19]
คัลเลอริเมตรี	น้ำตาล และ กลูโคสในเครื่องดื่ม	เอนไซม์กลูโคสออกซิเดส (GOx)	5 mol/L	Pink assay 5 mol/L และ Blue assay 10 mol/L	[20]
ยูวี-วิสิเบิลสเปคโตร โฟโตเมตรี	กลูโคส	Polyvinyl alcohol (PVA)	1 μ M – 10 mM	-	[21]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีดำเนินการทดลอง

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

3.1.1 สารเคมี

ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	ยี่ห้อและประเทศผู้ผลิต
Gold (III) chloride trihydrate	$\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	Sigma-Aldrich, USA
D-(+)-Glucose	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$	Sigma-Aldrich, USA
Sodium citrate tribasic dihydrate or (Trisodium citratedihydrate)	$\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Sigma-Aldrich, USA
3-aminophenylboronic acid monohydrate (APBA)	$\text{C}_6\text{H}_8\text{BNO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	ACROS ORGANIC, Belgium
Sodium hydroxide pellets	NaOH	Rankem, India

3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องตรวจวัด

1. ขวดวัดปริมาตร
2. ปีกเกอร์
3. ขวดรูปชมพู่
4. หลอดหยด
5. แท่งแก้ว
6. ไมโครปิเปต
7. นาฬิกาจับเวลา
8. กระดาษวัดพีเอช (pH paper)
9. เครื่อง Vortex
10. คิวเวต (Cuvett)
11. เครื่องพีเอชมิเตอร์ (827 pH lab Metrohm)
12. เครื่องยูวี - วิสibel สเปนโทรโฟโตมิเตอร์ (Jasco V-630)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 การเตรียมสารละลาย

สารละลายทุกตัวเตรียมจากน้ำกลั่นปราศจากไอออนที่ได้จากเครื่อง ZENEER UP 900 (ยี่ห้อ human corporation) และสารเคมีทุกตัวเป็นชนิดเกรดวิเคราะห์ (Analytical reagent grade)

3.2.1 การเตรียมสารละลายสำหรับการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโน

1. สารละลายทอง (HAuCl_4) ความเข้มข้นร้อยละ 0.01 โดยมวลต่อปริมาตร
ละลายทอง 0.0116 กรัม ในน้ำกลั่นปราศจากไอออนแล้วปรับปริมาตรด้วย
น้ำกลั่นปราศจากไอออนให้เป็น 100.00 มิลลิลิตร
2. สารละลายไตรโซเดียมซิเตรต ความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยมวล
ละลายไตรโซเดียมซิเตรต 0.28xx กรัม ในน้ำกลั่นปราศจากไอออนแล้วปรับ
ปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้เป็น 25.00 มิลลิลิตร
3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 โมลต่อลิตร
ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (pellets) 2 กรัม ในน้ำกลั่นปราศจากไอออนแล้ว
ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้เป็น 50.00 มิลลิลิตร

3.2.2 การเตรียมสารละลายสำหรับการศึกษาความเป็นไปได้ในการตรวจวัดกลูโคส

1. สารละลายมาตรฐานกลูโคส
เตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้น 500 มิลลิโมลต่อลิตร (Stock
solution) โดยละลายกลูโคส 2.25 กรัม ในน้ำกลั่นปราศจากไอออนแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น
ปราศจากไอออนให้เป็น 25.00 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของ สารละลายมาตรฐาน กลูโคสที่ต้องการ เตรียม (มิลลิโมล/ลิตร)	ความเข้มข้นของ สารละลายกลูโคสที่ใช้ (มิลลิโมล/ลิตร)	ปริมาตรสารละลายที่ ต้องปิเปต (มิลลิลิตร)	ปริมาตรสุดท้าย* (มิลลิลิตร)
300	500	6.00	10.00
100	500	2.00	10.00
50	100	5.00	10.00
20	100	2.00	10.00
10	100	1.00	10.00
1	10	1.00	10.00

* ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน

2. สารละลาย APBA ความเข้มข้น 1000 ไมโครโมลต่อลิตร
ละลาย APBA 0.0038 กรัม ในน้ำกลั่นปราศจากไอออนแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำ
กลั่นปราศจากไอออนให้เป็น 25.00 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย APBA ความเข้มข้น 1000
ไมโครโมลต่อลิตร

3. สารละลาย APBA ความเข้มข้น 8.25 มิลลิโมลต่อลิตร
ละลาย APBA 0.028x กรัม ในน้ำกลั่นปราศจากไอออนแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำ
กลั่นปราศจากไอออนให้เป็น 25.00 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย APBA ความเข้มข้น 8.25
มิลลิโมลต่อลิตร

3.2.3 การเตรียมสารตัวอย่าง

1. การเตรียมตัวอย่างเครื่องตีเกลือแร่

ตัวอย่างเครื่องตีเกลือแร่ทั้งหมดแบ่งออกเป็น 2 ชนิด ได้แก่ ชนิดที่ 1 และ
ชนิดที่ 2 ตัวอย่างเครื่องตีเกลือแร่ทุกชนิดจะถูกกรองผ่าน Nylon membrane ขนาด
0.22 ไมโครเมตร (Agela Technologies, USA) แล้วปิเปตมา 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น
ปราศจากไอออนจนได้ 100 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การเตรียมตัวอย่างปัสสาวะ

ตัวอย่างปัสสาวะทั้งหมดแบ่งออกเป็น 3 ตัวอย่าง ได้แก่ ตัวอย่าง 1, ตัวอย่าง 2 และตัวอย่าง 3 โดยที่ตัวอย่างทุกตัวจะถูกกรองผ่าน Nylon membrane ขนาด 0.22 ไมโครเมตร (Agela Technologies, USA) แล้วนำมาเจือจาง 100 เท่า โดยปิเปตมา 0.25 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนจนถึงขีดบอกปริมาตร

3.3 วิธีดำเนินการทดลอง

3.3.1 ศึกษาวิธีการสังเคราะห์และคุณสมบัติทางแสงอนุภาคของระดับนาโนโดยใช้ Turkevich method

1. เทสารละลายทอง ความเข้มข้นร้อยละ 0.01 โดยมวลต่อปริมาตร ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250.00 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนพร้อมทั้งปั่นกวนด้วยแท่งแม่เหล็ก
2. เมื่อสารละลายทองเดือด เติมสารละลายไตรโซเดียมซิเตรต ความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยมวล ปริมาตร 3.20 มิลลิลิตร ลงไปอย่างรวดเร็ว แล้วให้ความร้อนแก่สารละลายทองต่อไปอีก 15 นาที
3. สารละลายจะเปลี่ยนสีจากสีเหลืองอ่อนไปเป็นสีแดง
4. ทิ้งไว้ให้สารละลายเย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง จะได้สารละลายของอนุภาคทองระดับนาโน

3.3.2 ศึกษาวิธีการตรวจวัดกลุโคสด้วยอนุภาคทองระดับนาโน

3.3.2.1. ศึกษาปริมาตรของสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนที่เหมาะสมในการตรวจวัด

ในการศึกษาปริมาตรของสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนที่เหมาะสมในการตรวจวัดจะใช้สัดส่วนของสารละลายดังตารางที่ 3.2 โดยจะนำสารละลายตามสัดส่วนดังกล่าวใส่ลงในหลอดทดลอง นำไปปั่นเหวี่ยง (vortex) เป็นเวลา 5 นาที แล้วตั้งทิ้งไว้ 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง ยูวี – วิซิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ โดยใช้ น้ำกลั่นปราศจากไอออนแทนสารละลายตัวอย่างในการเตรียมสารละลายแบลนด์

ตารางที่ 3.2 แสดงสัดส่วนของสารละลายที่ใช้ศึกษาปริมาตรของสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนที่เหมาะสม

หลอดที่	ปริมาตร AuNPs ที่ใช้ (มิลลิลิตร)	ปริมาตรสารละลาย APBA ที่ใช้* (ไมโครลิตร)	น้ำกลั่นปราศจากไอออน (มิลลิลิตร)
1	1.00	300	8.70
2	2.00	300	7.70
3	4.00	300	5.70
4	6.00	300	3.70
5	8.00	300	1.70

* ปิเปิดจากสารละลาย APBA ความเข้มข้น 1000 ไมโครโมลต่อลิตร (ความเข้มข้นสุดท้าย 30 ไมโครโมลต่อลิตร)

3.3.2.2. ศึกษาความเข้มข้นของ 3-aminophenylboronic acid (APBA) ที่เหมาะสม

ในการศึกษาความเข้มข้นของ APBA ที่เหมาะสมจะใช้สัดส่วนของสารละลายดังตารางที่ 3.3 ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.3.2.1

ตารางที่ 3.3 แสดงสัดส่วนของสารละลายที่ใช้ศึกษาความเข้มข้นของ APBA ที่เหมาะสม

หลอดที่	ปริมาตร AuNPs ที่ใช้ (มิลลิลิตร)	ปริมาตรสารละลาย APBA ที่ใช้* (ไมโครลิตร)	น้ำกลั่นปราศจากไอออน (มิลลิลิตร)	ปริมาตรสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ใช้** (ไมโครลิตร)	ความเข้มข้นสุดท้ายของสารละลาย APBA (ไมโครโมล/ลิตร)
1	8.00	400	1.60	500	40
2	8.00	300	1.70	500	30
3	8.00	200	1.80	500	20
4	8.00	100	1.90	500	10

* ปิเปิดจากสารละลาย APBA ความเข้มข้น 1000 ไมโครโมลต่อลิตร

** ใช้สารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้น 1, 50, 100 และ 300

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2.3. ศึกษาลำดับในการผสมสารละลายในการตรวจวัดหาปริมาณกลูโคสที่พีเอช 9

1. ศึกษาอิทธิพลจากการปรับพีเอชของสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนก่อนติดหมู่ฟังก์ชัน APBA

ในการศึกษาการปรับพีเอชที่อนุภาคทองระดับนาโนโดยจะปรับพีเอชของสารละลายของอนุภาคทองระดับนาโนให้มีพีเอชเป็น 9 ก่อนที่จะนำมาทำปฏิกิริยากับ APBA และสารละลายมาตรฐานกลูโคส โดยจะนำสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนมาผสมกับ APBA และสารละลายมาตรฐานกลูโคสลงไปตามสัดส่วนดังตารางที่ 3.4 หลังจากผสมสารละลายตามสัดส่วนดังกล่าวแล้ว นำไปปั่นเหวี่ยง (vortex) เป็นเวลา 15 นาที แล้วจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง ยูวี – วิซิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ โดยใช้น้ำกลั่นปราศจากไอออนแทนสารละลายตัวอย่างในการเตรียมสารละลายแปลงค์

ตารางที่ 3.4 แสดงสัดส่วนของสารละลายที่ใช้ศึกษาการปรับพีเอชเป็น 9 ที่สารละลายอนุภาคทองระดับนาโนก่อนนำไปทำปฏิกิริยา

หลอดที่	ปริมาณ AuNPs ที่ใช้ (มิลลิลิตร)	ปริมาณ สารละลาย APBA ที่ใช้ (ไมโครลิตร)	ความเข้มข้น สารละลาย มาตรฐานกลูโคส ที่ใช้ (มิลลิโมล/ลิตร)	ปริมาณของ สารละลายมาตรฐาน กลูโคสที่ต้องปิเปต (ไมโครลิตร)
1	5.00	20	0	500**
2	5.00	20	10	500
3	5.00	20	20	500
4	5.00	20	30	500
5	5.00	20	40	500
6	5.00	20	50	500

* ปิเปตจากสารละลาย APBA ความเข้มข้น 8.25 มิลลิโมลต่อลิตร (ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 30 ไมโครโมลต่อลิตร)

** ใช้น้ำกลั่นปราศจากไอออนแทนสารละลายมาตรฐานกลูโคส

\

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ศึกษาอิทธิพลจากการปรับ pH ของสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนหลังติดหมู่ฟังก์ชัน APBA

ในการศึกษาการปรับพีเอชก่อนที่จะเติมสารละลายกลูโคส จะนำสารละลายของอนุภาคทองระดับนาโนมาทำปฏิกิริยากับ APBA ปรับพีเอชเป็น 9 ก่อนแล้วจึงเติมสารละลายมาตรฐานกลูโคส โดยผสมสารละลายของอนุภาคทองระดับนาโนกับสารละลาย APBA ในหลอดทดลอง นำไปปั่นเหวี่ยง (vortex) เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมสารละลายมาตรฐานกลูโคส นำไปปั่นเหวี่ยงอีกเป็นเวลา 5 นาที แล้วทิ้งไว้ 30 นาที โดยใช้สารละลายต่างๆตามสัดส่วนดังตารางที่ 3.5 แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง ยูวี – วิซิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ โดยใช้น้ำกลั่นปราศจากไอออนแทนสารละลายตัวอย่างในการเตรียมสารละลายแบลนด์

ตารางที่ 3.5 แสดงสัดส่วนของสารละลายที่ใช้ศึกษาลำดับการทำปฏิกิริยาแบบผสมสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนกับเอพีเอและปรับพีเอชเป็น 9 ก่อนเติมสารละลายมาตรฐานกลูโคส

หลอดที่	ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ใช้ (มิลลิโมล/ลิตร)	ปริมาณของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ต้องปีเปิด (ไมโครลิตร)	ปริมาณสารละลาย APBA ที่ใช้ (ไมโครลิตร)	ปริมาณ AuNPs ที่ใช้ (มิลลิลิตร)	น้ำกลั่นปราศจากไอออน (มิลลิลิตร)
1	0	-	300	8.00	2.20
2	10	500	300	8.00	1.70
3	50	500	300	8.00	1.70
4	100	500	300	8.00	1.70
5	500	500	300	8.00	1.70

* ปีเปิดจากสารละลาย APBA ความเข้มข้น 1000 ไมโครโมลต่อลิตร (ความเข้มข้นสุดท้าย 30 ไมโครโมลต่อลิตร)

3. การศึกษาการปรับพีเอชของสารละลาย APBA

ในการศึกษาการปรับพีเอชของสารละลาย APBA จะปรับพีเอชของสารละลาย APBA ให้มีค่าพีเอชเป็น 9 แล้วจึงนำมาทำปฏิกิริยากับอนุภาคทองระดับนาโนและสารละลายกลูโคสโดยผสมสารละลายกลูโคสกับ APBA แล้วนำไปปั่นเหวี่ยง (vortex) เป็นเวลา 1 นาทีก่อนนำไปผสมกับสารละลายอนุภาคทองระดับนาโน จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 5 นาที แล้วทิ้งไว้ 30 นาที โดยใช้สารละลายต่างๆตามสัดส่วนดังตารางที่ 3.6 แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้วยเครื่อง ยูวี – วิซิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ โดยใช้ น้ำกลั่นปราศจากไอออนแทนสารละลาย ตัวอย่างในการเตรียมสารละลายแบลงค์

ตารางที่ 3.6 แสดงสัดส่วนของสารละลายที่ใช้ศึกษาลำดับการทำปฏิกิริยาแบบผสมสารละลายกลูโคส กับเอพีไอเอก่อนเติมสารละลายของอนุภาคทองระดับนาโนโดยมีการปรับพีเอชที่ สารละลาย APBA ก่อน

หลอดที่	ความเข้มข้น สารละลาย มาตรฐานกลูโคสที่ใช้ (มิลลิโมล/ลิตร)	ปริมาณของ สารละลาย มาตรฐาน กลูโคสที่ต้อง ปิเปต (ไมโครลิตร)	ปริมาณ APBA ที่ใช้* (ไมโครลิตร)	ปริมาณ AuNPs ที่ใช้ (มิลลิลิตร)	น้ำกลั่น ปราศจาก ไอออน (มิลลิลิตร)
1	0	-	300	8.00	2.20
2	10	500	300	8.00	1.70
3	50	500	300	8.00	1.70
4	100	500	300	8.00	1.70
5	500	500	300	8.00	1.70

* ปิเปตจากสารละลาย APBA ความเข้มข้น 1000 ไมโครโมลต่อลิตร (ความเข้มข้นสุดท้าย 30 ไมโครโมลต่อลิตร)

3.3.2.4. การศึกษาความเป็นไปได้ในการตรวจวัดกลูโคสที่พีเอช 6

ในการศึกษาความเป็นไปได้ในการตรวจวัดกลูโคสที่พีเอช 6 จะทำการศึกษาความเข้มข้นของ APBA ซึ่งจะใช้สัดส่วนของสารละลายดังตารางที่ 3.3 และทำการ ทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.3.2.2

3.3.2.5. ผลการศึกษาลำดับการทำปฏิกิริยาที่พีเอช 6

1. การศึกษาการปรับพีเอชที่สารละลายอนุภาคทองระดับนาโน

ในการศึกษาการปรับพีเอชที่สารละลายอนุภาคทองระดับนาโน โดยจะทำการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่พีเอช 9 (แต่ไม่มีการปรับพีเอชเนื่องจากสารละลาย อนุภาคทองระดับนาโนมีพีเอชใกล้เคียง 6 อยู่แล้ว) โดยใช้สารละลายต่างๆตามสัดส่วนดังตารางที่ 3.7 หลังจากผสมสารละลายตามสัดส่วนดังกล่าวแล้ว นำไปปั่นเหวี่ยง (vortex) เป็นเวลา 5 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แล้วจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง ยูวี – วิซิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ โดยใช้น้ำกลั่นปราศจากไอออนแทนสารละลายตัวอย่างในการเตรียมสารละลายแบลนด์

ตารางที่ 3.7 แสดงสัดส่วนของสารละลายที่ใช้ศึกษาการปรับพีเอชที่สารละลายอนุภาคทองระดับนาโนก่อนนำไปทำปฏิกิริยา

หลอดที่	ปริมาณ AuNPs ที่ใช้ (มิลลิลิตร)	ปริมาณ สารละลาย APBA ที่ใช้* (ไมโครลิตร)	ปริมาณน้ำ กลั่น ปราศจาก ไอออนที่ใช้ (มิลลิลิตร)	ความเข้มข้น สารละลาย มาตรฐาน กลูโคสที่ใช้ (มิลลิโมล/ลิตร)	ปริมาณของ สารละลาย มาตรฐานกลูโคส ที่ต้องปิเปต (ไมโครลิตร)
1	8.00	100	1.90	0	500**
2	8.00	100	1.90	1	500
3	8.00	100	1.90	50	500
4	8.00	100	1.90	100	500
5	8.00	100	1.90	300	500

* ปิเปตจากสารละลาย APBA ความเข้มข้น มิลลิโมลต่อลิตร (ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 10 ไมโครโมลต่อลิตร)

** ใช้น้ำกลั่นปราศจากไอออนแทนสารละลายมาตรฐานกลูโคส

2. การศึกษาการปรับพีเอชก่อนที่จะเติมสารละลายกลูโคส

การศึกษาการปรับพีเอชก่อนที่จะเติมสารละลายกลูโคส โดยจะนำอนุภาคทองระดับนาโนมาทำปฏิกิริยากับสารละลาย APBA ก่อน แต่จะไม่มีกรปรับพีเอชของสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนและสารละลาย APBA เนื่องจากสารละลายนั้นมีค่าพีเอชใกล้เคียง 6 จึงทำให้ผลการศึกษาในหัวข้อนี้ และหัวข้อที่ 1. มีลำดับการทำปฏิกิริยาที่เหมือนกัน ดังนั้น จึงใช้ผลการทดลองของหัวข้อที่ 1 แทนผลการศึกษาในหัวข้อนี้

3. การศึกษาการปรับพีเอชที่สารละลาย APBA

ในการศึกษาการตรวจวัดกลูโคสที่พีเอช 6 จะผสมสารละลายกลูโคสกับ APBA แล้วนำไปปั่นเหวี่ยง (vortex) เป็นเวลา 1 นาทีแล้วจึงนำไปผสมกับสารละลายอนุภาคทองระดับนาโน นำไปปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 5 นาที แล้วทิ้งไว้ 30 นาที โดยใช้สารละลายต่างๆ ตามสัดส่วน ดังตารางที่ 3.8 แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง ยูวี – วิซิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ โดยใช้น้ำกลั่นปราศจากไอออนแทนสารละลายตัวอย่างในการเตรียมสารละลายแบลนด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.8 แสดงสัดส่วนของสารละลายที่ใช้ศึกษาการตรวจวัดกลูโคสที่พีเอช 6

หลอดที่	ความเข้มข้น สารละลาย มาตรฐานกลูโคสที่ ใช้ (มิลลิโมล/ลิตร)	ปริมาณของ สารละลาย มาตรฐาน กลูโคสที่ต้อง ปิเปต (ไมโครลิตร)	ปริมาตร ละลาย APBA ที่ใช้* (ไมโครลิตร)	ปริมาตร AuNPs ที่ใช้ (มิลลิลิตร)	น้ำกลั่น ปราศจาก ไอออน (มิลลิลิตร)
1	0	-	100	8.00	2.40
2	1	500	100	8.00	1.90
3	50	500	100	8.00	1.90
4	100	500	100	8.00	1.90
5	300	500	100	8.00	1.90

* ปิเปตจากสารละลาย APBA ความเข้มข้น 1000 ไมโครโมลต่อลิตร (ความเข้มข้นสุดท้าย 10 ไมโครโมลต่อลิตร)

3.3.3 การศึกษาคุณลักษณะของวิธีวิเคราะห์

3.3.3.1 การศึกษาความเป็นเส้นตรง

ในการศึกษาความเป็นเส้นตรง จะผสมสารละลายกลูโคสกับ APBA แล้วนำไปปั่นเหวี่ยง (vortex) เป็นเวลา 1 นาทีแล้วจึงนำไปผสมกับสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนนำไปปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 5 นาที แล้วทิ้งไว้ 30 นาที โดยใช้สารละลายต่างๆตามสัดส่วน ดังตารางที่ 3.9 แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง ยูวี - วิซิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ โดยใช้น้ำกลั่นปราศจากไอออนแทนสารละลายตัวอย่างในการเตรียมสารละลายแปลงค์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.9 แสดงสัดส่วนของสารละลายที่ใช้ศึกษาความเป็นเส้นตรง

หลอดที่	ความเข้มข้น สารละลาย มาตรฐานกลูโคสที่ ใช้ (มิลลิโมล/ลิตร)	ปริมาตรของ สารละลาย มาตรฐาน กลูโคสที่ต้อง ปิเปต (ไมโครลิตร)	ปริมาตร ละลาย APBA ที่ใช้ * (ไมโครลิตร)	ปริมาตร AuNPs ที่ใช้ (มิลลิลิตร)	น้ำกลั่น ปราศจาก ไอออน (มิลลิลิตร)
1	0	-	300	8.00	2.40
2	1	500	300	8.00	1.90
3	50	500	300	8.00	1.90
4	100	500	300	8.00	1.90
5	300	500	300	8.00	1.90

* ปิเปตจากสารละลาย APBA ความเข้มข้น 1000 ไมโครโมลต่อลิตร (ความเข้มข้นสุดท้าย 10 ไมโครโมลต่อลิตร)

3.3.3.2 การศึกษาความเที่ยง

ในการหาความเที่ยงของวิธี จะพิจารณาจากค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative standard deviation, %RSD) โดยทำการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานกลูโคส ที่ความเข้มข้น 150 มิลลิโมลต่อลิตร ซ้ำๆ เป็นจำนวน 4 ครั้ง จากนั้นหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ตามสูตรดังนี้

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

เมื่อ SD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
 \bar{X} คือ ค่าเฉลี่ย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.3.3 การศึกษาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ

ในการหาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ จะพิจารณาโดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่ ที่เติมสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลต่อลิตร และตัวอย่างปัสสาวะ ที่เติมสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 150 มิลลิโมลต่อลิตรลงไป จากนั้นคำนวณหาความเข้มข้นของตัวอย่างที่มีการเติมสารละลายมาตรฐานและคำนวณหาร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ (%recovery) ตามสูตรดังนี้

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

เมื่อ spiked sample คือ ความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่มีการเติมสารละลายมาตรฐาน
sample คือ ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง
standard คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติมลงไป

3.3.3.4 การศึกษาค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of detection)

สูตรดังนี้

ในส่วนนี้เป็นการหาขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดของวิธี ซึ่งคำนวณได้ตาม

$$LOD = y_B + 3S_B$$

เมื่อ y_B คือ จุดตัดแกน y ของสมการเส้นตรง

S_B คือ ค่าความคลาดเคลื่อนในแนวแกน y โดยคิดจาก $S_B = \sqrt{\frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2}}$

โดยที่ y_i คือ ค่าจริงที่อ่านได้จากเครื่องมือ

\hat{y}_i คือ ค่าที่ได้จากการแทนค่า x ลงในสมการเส้นตรง

n คือ จำนวนค่า x

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.4 การศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคสในตัวอย่าง

ในการศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคสในตัวอย่าง จะใช้สัดส่วนของสารละลายดังตารางที่ 3.10 ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.3.3.1 แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาความเข้มข้นของกลูโคสในสารตัวอย่าง

ตารางที่ 3.10 แสดงสัดส่วนของสารละลายที่ใช้ศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคสในตัวอย่าง

หลอดที่	สารตัวอย่างที่ใช้	ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างที่ต้อง ปิเปต(ไมโครลิตร)	ปริมาตรละลาย APBA ที่ใช้* (ไมโครลิตร)	ปริมาตร AuNPs ที่ใช้ (มิลลิลิตร)	น้ำกลั่นปราศจากไอออน (มิลลิลิตร)
1	Tonic water 1	500	100	8.00	1.90
2	Tonic water 2	500	100	8.00	1.90
3	Tonic water 3	500	100	8.00	1.90
4	Urine sample 1	500	100	8.00	1.90
5	Urine sample 2	500	100	8.00	1.90
6	Urine sample 3	500	100	8.00	1.90

* ปิเปตจากสารละลาย APBA ความเข้มข้น 1000 ไมโครโมลต่อลิตร (ความเข้มข้นสุดท้าย 10 ไมโครโมลต่อลิตร)

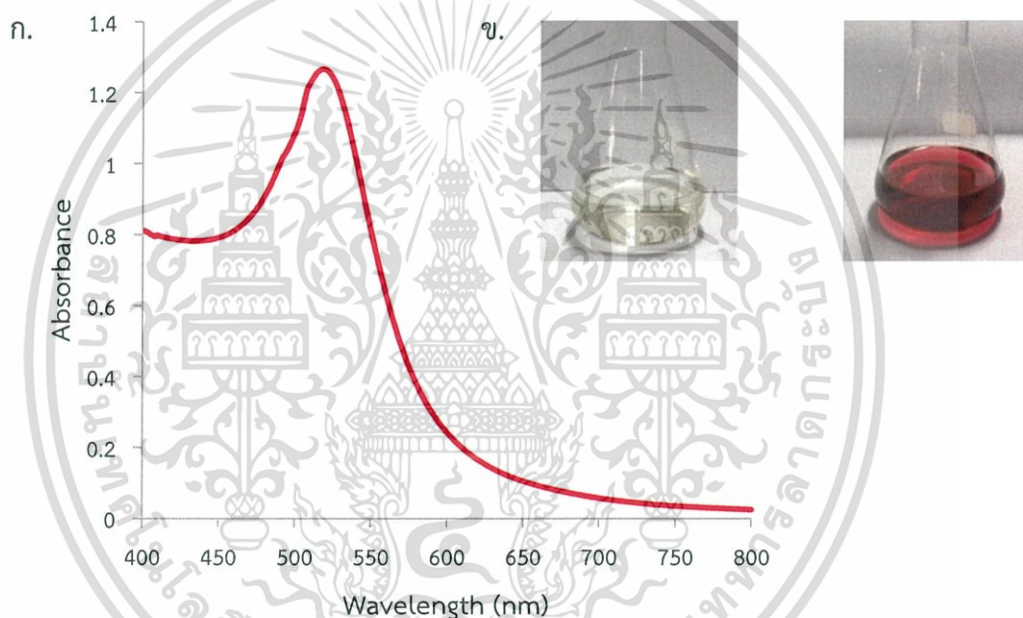
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ผลการศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโนโดยใช้ Turkevich method

ในการศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโน ได้ทำการรีดิวซ์สารละลายทอง (HAuCl_4) ความเข้มข้นร้อยละ 0.01 โดยมวลต่อปริมาตร ด้วยสารละลายไตรโซเดียมซิเตรต ความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยมวล ปริมาตร 3.20 มิลลิลิตร ซึ่งสารละลายจะเปลี่ยนสีจากสีเหลืองอ่อนไปเป็นสีแดง แสดงให้เห็นว่ามีการเกิดอนุภาคทองนาโนขึ้น จากนั้นนำสารละลายอนุภาคทองนาโนที่เกิดขึ้นไปตรวจวัดสเปกตรัมในช่วงความยาวคลื่น 400 ถึง 800 นาโนเมตร ซึ่งได้ผลดังรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 ภาพ ก. แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโน ภาพ ข. (ซ้าย) แสดงภาพถ่ายสารละลาย HAuCl_4 และ ภาพ ข. (ขวา) แสดงภาพถ่ายสารละลายอนุภาคทองระดับนาโน

จากรูปที่ 4.1 จะพบว่า ความยาวคลื่นสูงสุดของอนุภาคทองระดับนาโนที่สามารถดูดกลืนได้ (λ_{max}) อยู่ที่ 518 นาโนเมตร ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้ผลที่มีค่าใกล้เคียงกับเอกสารอ้างอิง [17] มีความยาวคลื่นสูงสุดของอนุภาคทองระดับนาโน (λ_{max}) อยู่ที่ 520 นาโนเมตร แสดงให้เห็นว่า มีการเกิดอนุภาคทองระดับนาโนขึ้นจริง

จากภาพ ข. (ซ้าย) แสดงสารละลายทอง ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) ก่อนการสังเคราะห์ จะเห็นเป็นสีเหลืองอ่อน ภาพ ข. (ขวา) แสดงสารละลายทอง ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) หลังจากถูกรีดิวซ์ด้วยสารละลายไตรโซเดียมซิเตรต สารละลายทองจะเปลี่ยนสีจากสีเหลืองอ่อนไปเป็นสีแดง

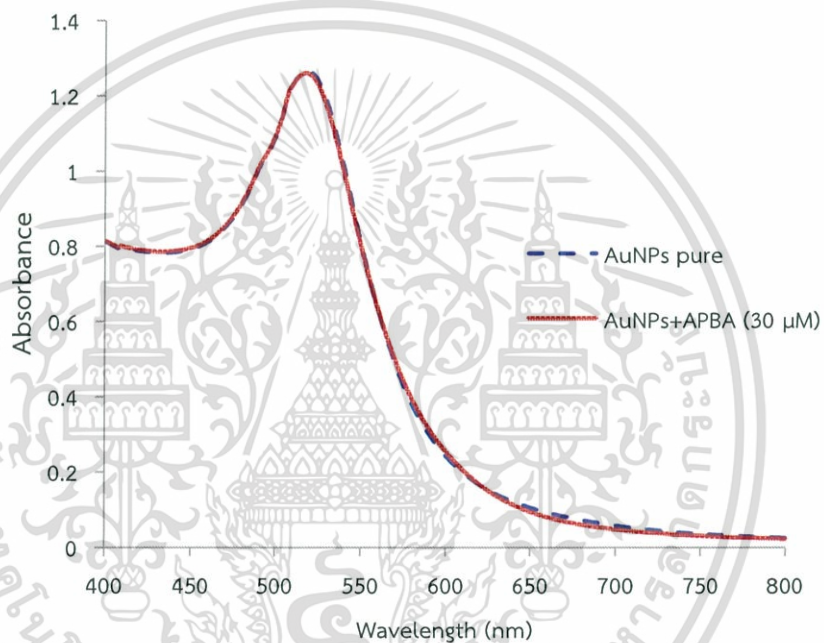
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลการศึกษาวิธีการตรวจวัดกลูโคสด้วยอนุภาคทองระดับนาโน

จากการศึกษาเอกสารอ้างอิง [17] ได้ทำการศึกษาการตรวจวัดกลูโคสทั้ง pH 6 และ pH 9 โดยในงานวิจัยนี้ได้เริ่มทำการศึกษาที่ pH 9 เป็นลำดับแรก

4.2.1 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนที่เกิดอันตรกิริยากับ APBA

ได้ทำการศึกษาการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนที่เกิดอันตรกิริยากับ APBA ที่ช่วงความยาวคลื่น 400 - 800 นาโนเมตร พบว่าได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.2

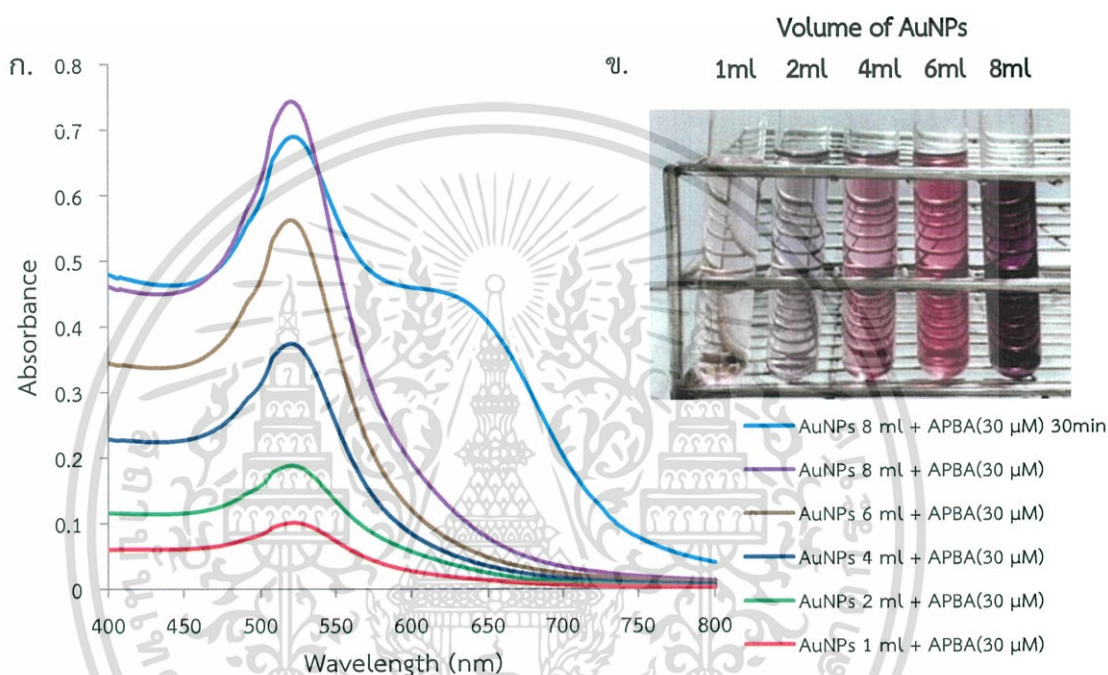


รูปที่ 4.2 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนที่เกิดอันตรกิริยากับสารละลาย APBA ความเข้มข้น 30 ไมโครโมลต่อลิตร

จากรูปที่ 4.2 จะพบว่า ความยาวคลื่นสูงสุดของอนุภาคทองระดับนาโนที่เกิดอันตรกิริยากับ APBA สามารถดูดกลืนได้ (λ_{\max}) อยู่ที่ 518 นาโนเมตร จากลักษณะของสเปกตรัมจากรูปที่ 4.1 และรูปที่ 4.2 เมื่อนำมาเปรียบเทียบกันพบว่า ค่าความยาวคลื่นสูงสุดในการดูดกลืนแสง (λ_{\max}) ไม่ต่างไปจากเดิม ทำให้ทราบว่าอนุภาคทองระดับนาโนเกิดอันตรกิริยากับ APBA ไม่เกิดการรวมตัวกันของอนุภาคทองระดับนาโนและฟังก์ชัน APBA ก่อนที่จะมีการลงตัวอย่างของกลูโคส

4.2.2 ผลการศึกษาปริมาณอนุภาคทองระดับนาโนที่เหมาะสมในการตรวจวัด

ในการศึกษาปริมาณของอนุภาคทองระดับนาโนที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาใช้อนุภาคทองระดับนาโนที่ปริมาตร 1, 2, 4, 6 และ 8 มิลลิลิตร ตามลำดับ โดยเป็นการศึกษาเมื่อยังไม่มีการเติมกลูโคสลงไป ในการเกิดอันตรกิริยากับ APBA ที่ความเข้มข้นสุดท้าย 30 ไมโครโมลต่อลิตร โดยปรับปริมาตรทั้งหมดเป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำปราศจากไอออน พบว่าได้ผลการทดลองการทดลองดังรูปที่ 4.3



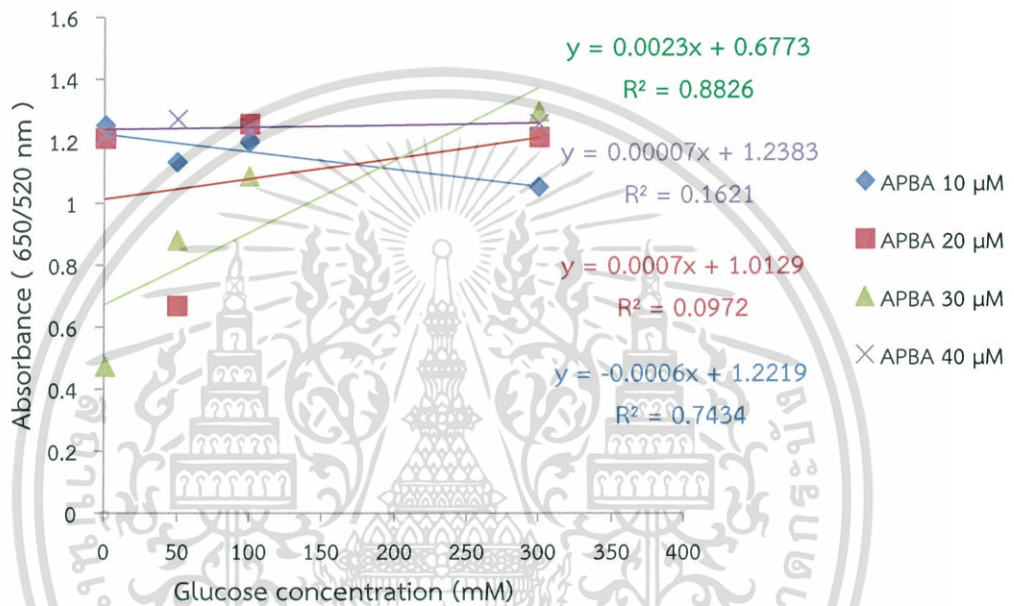
รูปที่ 4.3 ภาพ ก. สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนปริมาตร 1, 2, 4, 6 และ 8 มิลลิลิตร ตามลำดับ ในการเกิดอันตรกิริยากับ APBA ที่มีความเข้มข้นสุดท้าย 30 ไมโครโมลต่อลิตร โดยปรับปริมาตรทั้งหมดเป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำปราศจากไอออน ภาพ ข. ภาพถ่ายแสดงสีของสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนปริมาตร 1, 2, 4, 6 และ 8 มิลลิลิตร เมื่อเกิดอันตรกิริยากับสารละลาย APBA ตามลำดับ

จากรูปที่ 4.3 จะพบว่า สเปกตรัมของอนุภาคทองระดับนาโนที่ปริมาตร 8 มิลลิลิตร จะเกิดอันตรกิริยากับ APBA โดยสารละลายจะเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีม่วง และเมื่อตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที พบว่าสารละลายนั้นมีการเปลี่ยนแปลงของสีที่เข้มข้น นำมาวัดสเปกตรัม พบว่ามีพีคเกิดขึ้นที่ 650 นาโนเมตร เนื่องจากเกิดการรวมตัวกันเอง (self - aggregation) ของอนุภาคทองระดับนาโน แต่อย่างไรก็ตาม ที่ปริมาตรของสารละลายอนุภาคทองระดับนาโน 8 มิลลิลิตรที่เติมสารละลาย APBA แต่ตั้งทิ้งไว้ น้อยกว่า 30 นาที พบว่าไม่เกิดพีคที่ 650 นาโนเมตรแต่อย่างใด ดังนั้นจึงนำผลจากการทดลองที่ได้นี้มาทำการทดลองกับสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่พีเอช 9 ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.3 ผลการศึกษาความเข้มข้นของ APBA ที่เหมาะสม

ในการศึกษาความเข้มข้นของ APBA ที่เหมาะสม จะใช้ความเข้มข้นสุดท้ายของ APBA เป็น 10, 20, 30 และ 40 ไมโครโมลต่อลิตร ตามลำดับ ในการทำปฏิกิริยากับอนุภาคของระดับนาโนปริมาตร 8 มิลลิลิตร ที่ได้จากการศึกษาปริมาตรของอนุภาคของระดับนาโนที่เหมาะสมในการตรวจวัด โดยปรับปริมาตรทั้งหมดเป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำปราศจากไอออนและเติมกลูโคสที่ความเข้มข้น 1, 10, 50, และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร ตามลำดับ พบว่าได้ผลการทดลองการทดลอง ดังรูปที่ 4.4



รูปที่ 4.4 แสดงกราฟมาตรฐานที่พล็อตระหว่างอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตร กับสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 1, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร

ตารางที่ 4.1 สรุปสมการเชิงเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์การตัดลิ้นใจ เมื่อใช้ความเข้มข้นสุดท้ายของ APBA ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นสุดท้ายของ APBA (ไมโครโมลต่อลิตร)	สมการเส้นตรง	สัมประสิทธิ์การตัดลิ้นใจ (R^2)
10	$y = -0.0006x + 1.2219$	0.7434
20	$y = 0.0007x + 1.0129$	0.0972
30	$y = 0.0023x + 0.6773$	0.8826
40	$y = 0.00007x + 1.2383$	0.1621

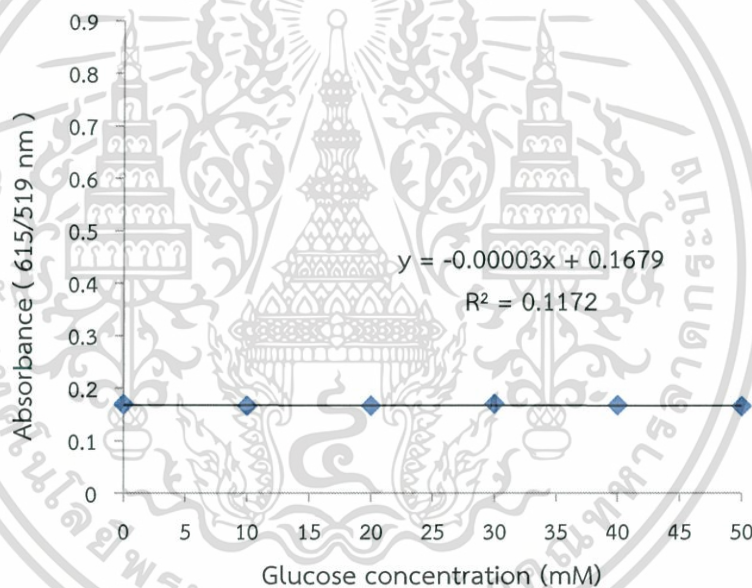
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองพบว่า ความเข้มข้นสุดท้ายของ APBA ที่ 30 ไมโครโมลต่อลิตร ให้ค่าความเป็นเส้นตรงที่ดีที่สุด ดังนั้นจากผลการทดลองดังกล่าว ในงานวิจัยนี้จึงได้เลือกใช้ ความเข้มข้นสุดท้ายของสารละลาย APBA 30 ไมโครโมลต่อลิตร ในการศึกษาลำดับการทำปฏิกิริยาที่พีเอช 9 ต่อไป อีกทั้งยังสอดคล้องตามเอกสารอ้างอิง [17] ที่พีเอช 9 ซึ่งใช้ความเข้มข้นของสารละลาย APBA 30 ไมโครโมลต่อลิตร

4.2.4 ผลการศึกษาลำดับการทำปฏิกิริยาที่พีเอช 9

4.2.4.1 ผลการศึกษาการปรับพีเอชที่สารละลายอนุภาคทองระดับนาโน

ในการศึกษาการปรับพีเอชที่สารละลายอนุภาคทองระดับนาโนก่อนที่จะนำมาทำปฏิกิริยากับสารละลาย APBA และสารละลายกลูโคส โดยที่จะปรับพีเอชของอนุภาคทองระดับนาโนให้มีค่าพีเอชเป็น 9 พบว่าได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.5

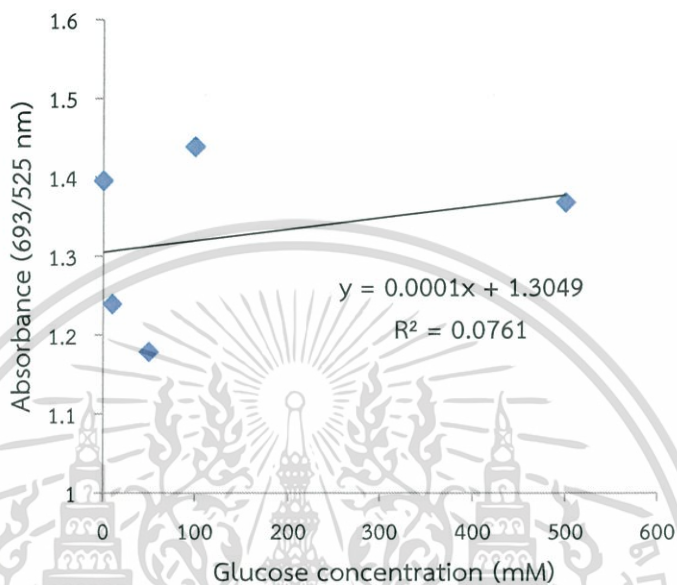


รูปที่ 4.5 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 615/519 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 0-50 มิลลิโมลต่อลิตร

จากรูปที่ 4.5 จะพบว่า มีช่วงความเป็นเส้นตรงที่ไม่ดี มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดใจต่ำมาก (0.1172) ดังนั้นจากผลการทดลองดังกล่าว การปรับพีเอชที่สารละลายอนุภาคทองระดับนาโนยังไม่มี ความเหมาะสม จึงทำให้มีการเปลี่ยนลำดับปฏิกิริยาใหม่ในการทดลองต่อไป

4.2.4.2 ผลการศึกษาการปรับพีเอชก่อนที่จะเติมสารละลายกลูโคส

ในหัวข้อนี้เป็นการศึกษาการปรับพีเอชก่อนที่จะเติมสารละลายกลูโคส โดยจะนำอนุภาคของระดับนาโนมาทำปฏิกิริยากับสารละลาย APBA ก่อนแล้วจึงค่อยปรับพีเอชของสารละลายให้เป็น 9 พบว่าได้ผลการทดลอง ดังรูปที่ 4.6

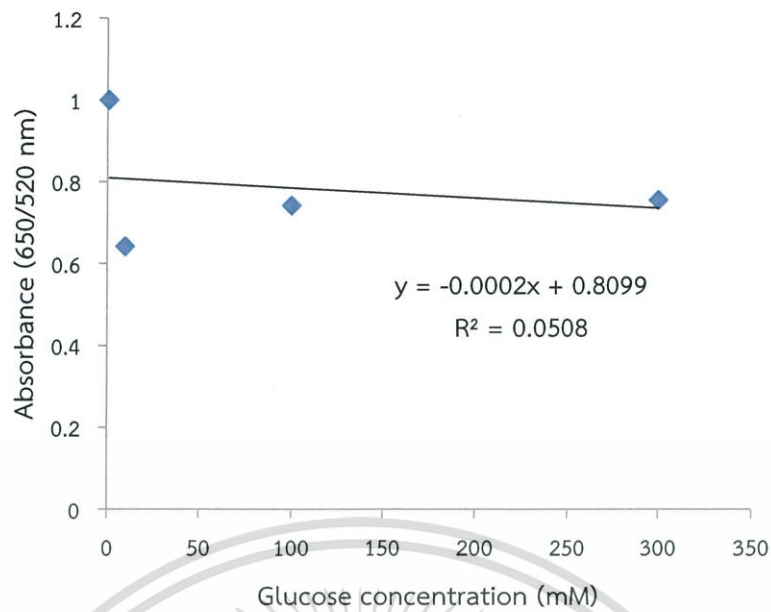


รูปที่ 4.6 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 693/525นาโนเมตรกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 0, 10, 50, 100 และ 500 มิลลิโมลต่อลิตร

จากรูปที่ 4.6 จะพบว่า มีช่วงความเป็นเส้นตรงที่ไม่ดีและมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสนใจต่ำมาก (0.0761) จึงถือว่าไม่มีช่วงความเป็นเส้นตรง ดังนั้นจากผลการทดลองดังกล่าวจึงสรุปได้ว่า การปรับพีเอชก่อนที่จะเติมสารละลายกลูโคสไม่เหมาะสม ต้องปรับเปลี่ยนลำดับของสารในการทดลองครั้งต่อไป

4.2.4.3 ผลการศึกษาการปรับพีเอชที่สารละลาย APBA

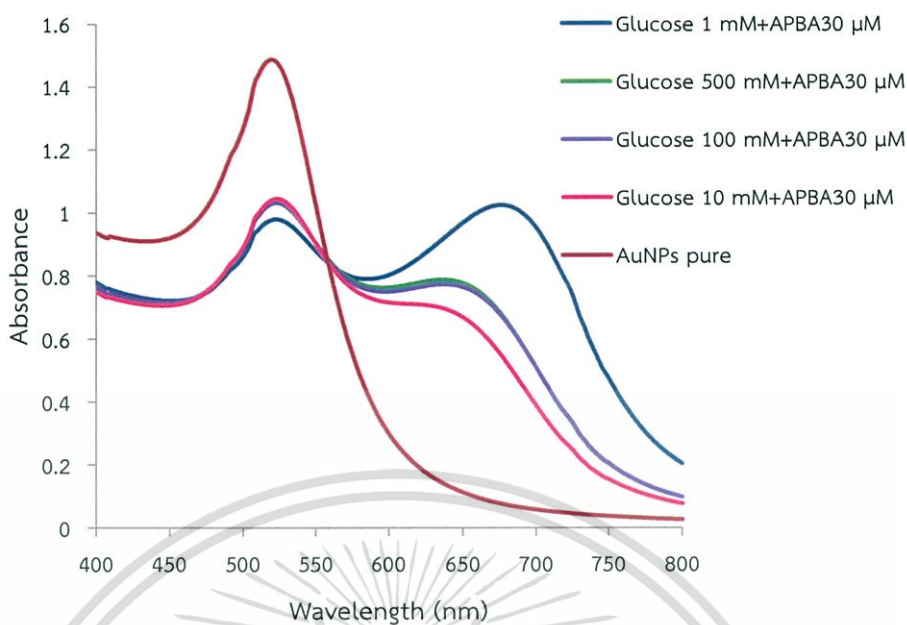
ในการศึกษาการปรับพีเอชที่สารละลาย APBA โดยจะปรับพีเอชของสารละลาย APBA ให้มีค่าพีเอชเป็น 9 ก่อนที่จะนำมาทำปฏิกิริยากับสารละลายกลูโคสในช่วงความเข้มข้นเข้มข้น 1, 10, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร และสารละลายอนุภาคของระดับนาโนเป็นลำดับสุดท้าย พบว่าได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.7



รูปที่ 4.7 แสดงกราฟมาตรฐานที่พล็อตระหว่างอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 1 - 300 มิลลิโมลต่อลิตร

จากรูปที่ 4.7 จะพบว่า มีช่วงความเป็นเส้นตรงที่ไม่ดีและมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสิ้นใจต่ำ (0.0508) จึงถือว่าไม่มีช่วงความเป็นเส้นตรง ดังนั้นจากผลการทดลองดังกล่าว การปรับพีเอชของสารละลาย APBA ให้มีค่าพีเอชเป็น 9 จึงยังไม่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยา

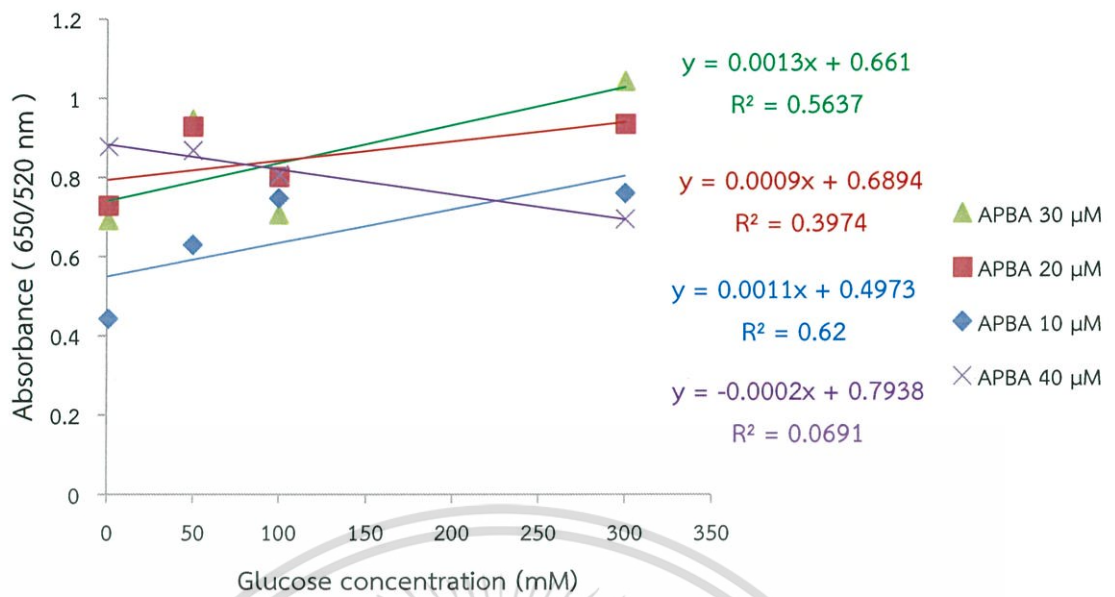
จากการศึกษาที่พีเอช 9 นั้น จะพบว่า สเปกตรัมของค่าการดูดกลืนแสงของสารนั้นลดลงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตรและเพิ่มขึ้นที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร อย่างไม่เป็นลำดับ ไม่ว่าจะปรับลำดับการทำปฏิกิริยาและลำดับการปรับพีเอชเป็นแบบใดก็ตาม ดังตัวอย่างสเปกตรัมในรูป 4.8 ในงานวิจัยนี้จึงปรับเปลี่ยนสภาวะมาทำที่พีเอช 6 เนื่องจากเอกสารอ้างอิง [17] นั้นสามารถทำได้ทั้งพีเอช 6 และพีเอช 9 ดังนั้นในการทดลองต่อไปจะยังใช้สภาวะการทดลองเช่นเดียวกับพีเอช 9 แต่ไม่มีการปรับพีเอช เนื่องจากสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนมีพีเอชประมาณ 6



รูปที่ 4.8 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนหลังทำปฏิกิริยากับสารละลาย APBA ความเข้มข้น 30 ไมโครโมลต่อลิตร ที่ปรับพีเอช 9 และสารละลายมาตรฐานกลูโคส ที่ความเข้มข้น 0, 10, 50, 100 และ 500 มิลลิโมลต่อลิตร

4.2.5 ผลการศึกษาความเป็นไปได้ในการตรวจวัดกลูโคสที่พีเอช 6

จากการศึกษาความเป็นไปได้ในการตรวจวัดกลูโคสที่พีเอช 6 จะใช้สภาวะ การทดลองเดียวกับพีเอช 9 โดยจะทำการเติมกลูโคสที่ความเข้มข้น 1, 10, 50, และ 300 มิลลิโมล ต่อลิตร ตามลำดับ และนำมาทำปฏิกิริยากับสารละลาย APBA ที่ความเข้มข้นสุดท้าย 10, 20, 30 และ 40 ไมโครโมลต่อลิตร ก่อนที่จะนำมาผสมกับอนุภาคทองระดับนาโนที่ปริมาณที่เหมาะสม พบว่า ได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.9



รูปที่ 4.9 แสดงกราฟมาตรฐานที่พล็อตระหว่างอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตร กับสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 1, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร

ตารางที่ 4.2 สรุปสมการเชิงเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ เมื่อใช้ความเข้มข้นสุดท้ายของ APBA ที่ความเข้มข้นต่างๆ

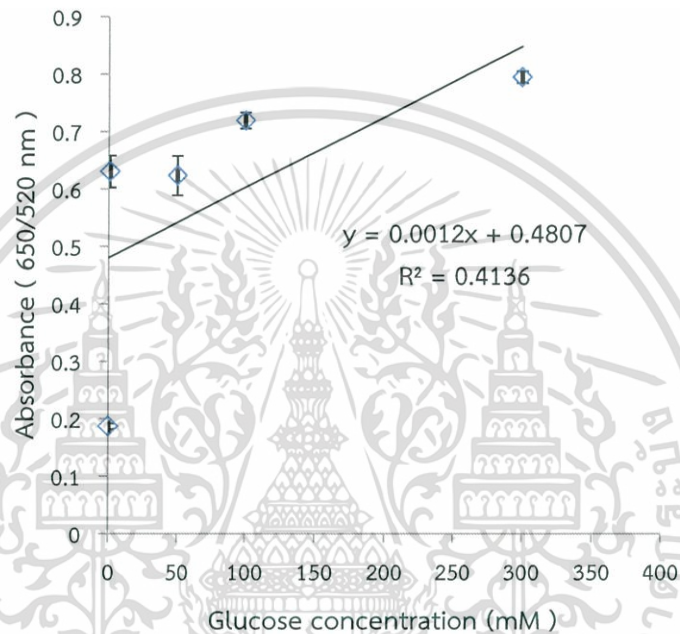
ความเข้มข้นสุดท้ายของ APBA (ไมโครโมลต่อลิตร)	สมการเส้นตรง	สัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2)
10	$y = 0.0011x + 0.4973$	0.62
20	$y = 0.0009x + 0.6894$	0.3974
30	$y = 0.0013x + 0.661$	0.5637
40	$y = -0.0002x + 0.7938$	0.0691

จากผลการทดลองพบว่า ความเข้มข้นสุดท้ายของ APBA ที่ 10 ไมโครโมลต่อลิตร ให้ค่าความเป็นเส้นตรงที่ดีที่สุด ดังนั้นจึงใช้ความเข้มข้นของสารละลาย APBA ที่ 10 ไมโครโมลต่อลิตร กับสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 1, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร เพื่อศึกษาลำดับในการทำปฏิกิริยาที่พีเอช 6 ต่อไป

4.2.6 ผลการศึกษาลำดับการทำปฏิกิริยาที่พีเอช 6

4.2.6.1 ผลการศึกษาการปรับพีเอชที่สารละลายอนุภาคทองระดับนาโน

ในการศึกษาการปรับพีเอชที่สารละลายอนุภาคทองระดับนาโนก่อนที่จะนำมาทำปฏิกิริยากับสารละลาย APBA และสารละลายกลูโคส โดยจะไม่มี การปรับพีเอชของอนุภาคทองระดับนาโน เนื่องจากสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนที่สังเคราะห์นั้นมีค่าพีเอชที่ใกล้เคียง 6 พบว่าได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.10



รูปที่ 4.10 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 1 - 300 มิลลิโมลต่อลิตร

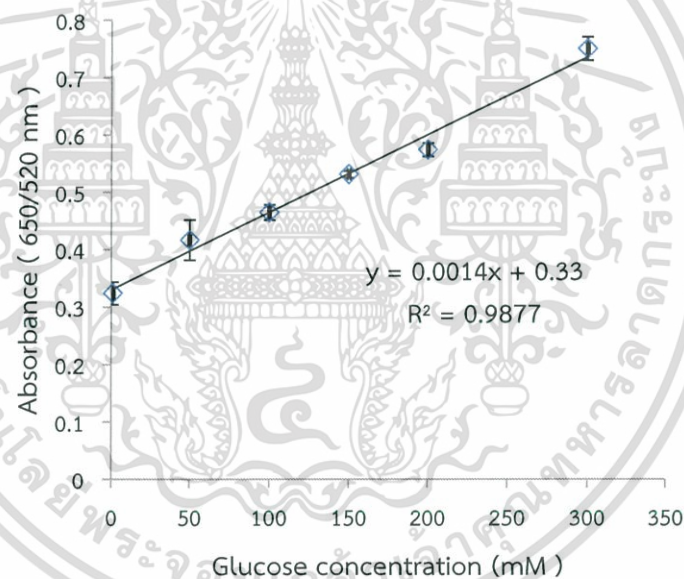
จากรูปที่ 4.10 จะพบว่า มีช่วงความเป็นเส้นตรงที่ไม่ดี มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจต่ำมาก (0.4136) ดังนั้นจากผลการทดลองดังกล่าว ลำดับในการทำปฏิกิริยาที่ไม่มีการปรับพีเอชของอนุภาคทองระดับนาโนนั้นยังไม่เหมาะสมในการทดลอง จึงต้องมีการปรับเปลี่ยนลำดับการทำปฏิกิริยาต่อไป

4.2.6.2 ผลการศึกษาการปรับพีเอชก่อนที่จะเติมสารละลายกลูโคส

ในหัวข้อนี้เป็นการศึกษาการปรับพีเอชก่อนที่จะเติมสารละลายกลูโคส โดยจะนำอนุภาคของระดับนาโนมาทำปฏิกิริยากับสารละลาย APBA ก่อน แต่จะไม่มี การปรับพีเอชของสารละลายอนุภาคของระดับนาโนและสารละลาย APBA เนื่องจากสารละลายนั้นมีค่าพีเอชใกล้เคียง 6 จึงทำให้ผลการศึกษาในหัวข้อที่ 4.2.6.1 และหัวข้อที่ 4.2.6.2 มีลำดับการทำปฏิกิริยาที่เหมือนกัน ดังนั้น จึงใช้ผลการทดลองของหัวข้อที่ 4.2.6.1 แทนผลการศึกษาในหัวข้อนี้

4.2.6.3 ผลการศึกษาการปรับพีเอชที่สารละลาย APBA

ในการศึกษาการปรับพีเอชที่สารละลาย APBA โดยไม่มี การปรับพีเอชของสารละลาย APBA ก่อนที่จะนำมาทำปฏิกิริยากับสารละลายกลูโคสในช่วงความเข้มข้นเข้มข้น 1, 50, 100, 150, 200 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร และสารละลายอนุภาคของระดับนาโนเป็นลำดับสุดท้ายพบว่าได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.11



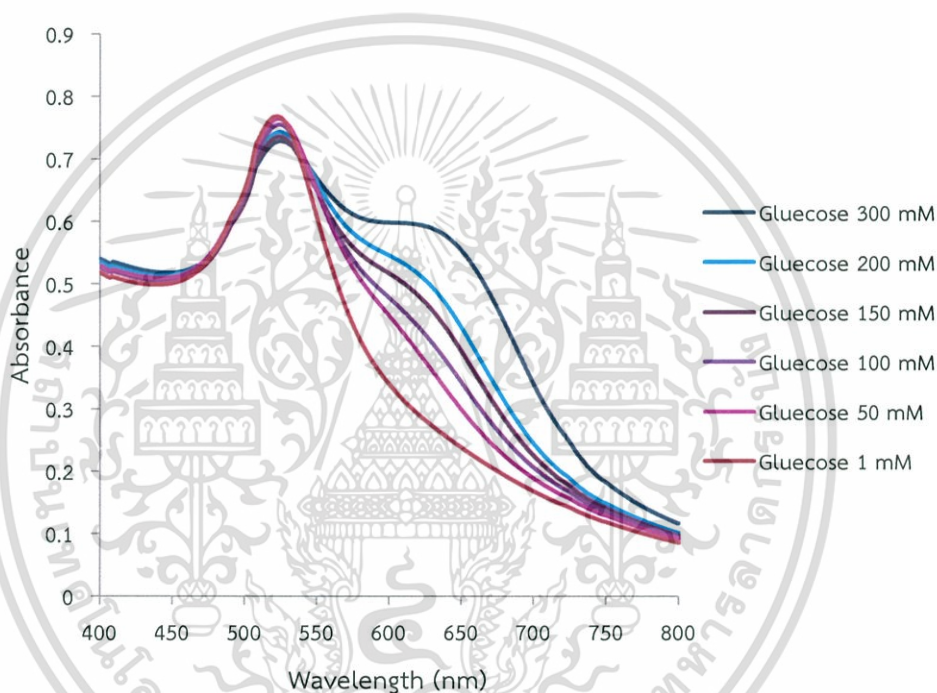
รูปที่ 4.11 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 1 - 300 มิลลิโมลต่อลิตร

จากรูปที่ 4.11 จะพบว่า สามารถวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสได้ช่วงความเป็นเส้นตรง 1 - 300 มิลลิโมลต่อลิตร มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ เท่ากับ 0.9877 กราฟมาตรฐานนี้มีความเป็นเส้นตรงที่ดี จึงนำมาทำการศึกษาคคุณลักษณะเด่นของวิธีการในลำดับถัดไป

4.3 ผลการศึกษาคุณลักษณะเด่นของวิธี

4.3.1 ผลการศึกษาความเป็นเส้นตรง

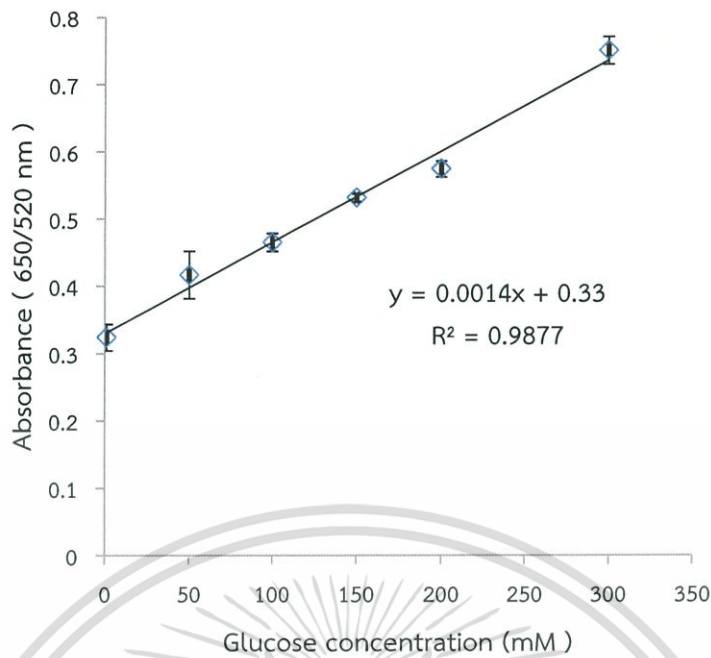
เมื่อนำอนุภาคทองคำระดับนาโนที่สังเคราะห์ขึ้นได้ไปทำปฏิกิริยากับสารละลาย APBA ที่ความเข้มข้นสุดท้าย 10 ไมโครโมลต่อลิตร และสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 1, 50, 100, 150, 200 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร แล้วนำไปตรวจวัดสเปกตรัมในช่วงความยาวคลื่น 400 ถึง 800 นาโนเมตร พบว่าได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.12 ซึ่งลักษณะของสเปกตรัมและค่าความยาวคลื่นสูงสุดที่ได้จากงานวิจัยนี้มีค่าใกล้เคียงกับค่าที่ได้จากวิธีอ้างอิง [17]



รูปที่ 4.12 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองคำระดับนาโนหลังทำปฏิกิริยากับสารละลาย APBA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลต่อลิตร และสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 1 - 300 มิลลิโมลต่อลิตร ตามลำดับ

จากผลการทดลอง ได้สร้างกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตร ของสารละลาย APBA ที่ความเข้มข้นสุดท้าย 10 ไมโครโมลต่อลิตร กับสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 1 - 300 มิลลิโมลต่อลิตร ดังรูปที่ 4.13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.13 แสดงกราฟมาตรฐานที่พล็อตระหว่างอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตร ของสารละลาย APBA ที่ความเข้มข้นสุดท้าย 10 ไมโครโมลต่อลิตร กับสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 1 – 300 มิลลิโมลต่อลิตร

จากกราฟ สามารถวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสได้ช่วงความเป็นเส้นตรง 1 – 300 มิลลิโมลต่อลิตร มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ เท่ากับ 0.9877 จึงถือว่ากราฟมาตรฐานนี้มีความเป็นเส้นตรงที่ดี แสดงให้เห็นว่า มีความเป็นไปได้ที่จะนำอนุภาคทองระดับนาโนที่สังเคราะห์ขึ้นไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดหาปริมาณกลูโคสในตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่และตัวอย่างปัสสาวะในลำดับถัดไป

4.3.2 ผลการศึกษาความเที่ยง

ในการหาความเที่ยงของวิธี จะพิจารณาจากค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ โดยทำการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานกลูโคส ที่ความเข้มข้น 150 มิลลิโมลต่อลิตร ซ้ำๆ เป็นจำนวน 4 ครั้ง จากนั้นหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ พบว่าค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมีค่าเท่ากับ 3.07 ซึ่งน้อยกว่าร้อยละ 5 ดังนั้นจึงถือได้ว่าวิธีนี้มีความเที่ยงที่สูง

4.3.3 ผลการศึกษาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ

การศึกษาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ จะศึกษาโดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่าง เครื่องดื่มเกลือแร่ ที่เติมสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลต่อลิตร และตัวอย่าง ปัสสาวะ ที่เติมสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 150 มิลลิโมลต่อลิตรลงไป จากนั้น คำนวณหาความเข้มข้นของตัวอย่างที่มีการเติมสารละลายมาตรฐาน และค่าร้อยละของการวิเคราะห์ คืนกลับ ซึ่งแสดงในตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 แสดงผลการคำนวณหาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ สำหรับการวิเคราะห์ ปริมาณกลูโคสในตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่ด้วยเครื่องยูวี – วิซิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

สารละลาย ตัวอย่าง	ความเข้มข้นของกลูโคส (มิลลิโมลต่อลิตร)			ร้อยละของการวิเคราะห์ คืนกลับ
	ที่เติมลงไป (50 mM)	แรกเริ่ม	ที่ตรวจพบ (50 mM)	
Tonic water 1	62	39.86	90.57±0.019	81.79
Tonic water 2	62	44.86	127.00±0.026	132.48
Tonic water 3	62	37.00	132.00±0.016	153.23

จากตารางที่ 4.3 พบว่า ค่าร้อยละการวิเคราะห์คืนกลับของตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่อยู่ในเกณฑ์พอใช้ (ร้อยละ 83 ถึง 153) แต่ก็ยังไม่ใกล้เคียง 100 % ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการรบกวนจากองค์ประกอบในตัวอย่าง

ตารางที่ 4.4 แสดงผลการคำนวณหาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ สำหรับการวิเคราะห์ ปริมาณกลูโคสในตัวอย่างปัสสาวะด้วยเครื่องยูวี – วิซิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

สารละลาย ตัวอย่าง	ความเข้มข้นของกลูโคส (มิลลิโมลต่อลิตร)			ร้อยละของการวิเคราะห์ คืนกลับ
	ที่เติมลงไป (150 mM)	แรกเริ่ม	ที่ตรวจพบ (150 mM)	
Urine 1	144.14	N.D.*	N.D.*	-
Urine 2	144.14	N.D.*	N.D.*	-
Urine 3	144.14	N.D.*	N.D.*	-

หมายเหตุ : *N.D. = ไม่สามารถตรวจวัดได้

จากตารางที่ 4.4 พบว่า ตัวอย่างปัสสาวะแต่ละตัวอย่างนั้นไม่สามารถหาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับได้ เนื่องจากตัวอย่างปัสสาวะอาจมีองค์ประกอบภายในตัวอย่างที่รบกวนต่อการวิเคราะห์จึงไม่สามารถหาปริมาณกลูโคสในตัวอย่างปัสสาวะได้

4.3.4 ผลการศึกษาค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด

ในส่วนนี้เป็นการหาขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดของวิธี ซึ่งคำนวณได้ตามสูตรดังนี้

$$LOD = y_B + 3S_B$$

เมื่อ y_B คือ จุดตัดแกน y ของสมการเส้นตรง

S_B คือ ค่าความคลาดเคลื่อนในแนวแกน y โดยคิดจาก $S_B = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2}}$

โดยที่ y_i คือ ค่าจริงที่อ่านได้จากเครื่องมือ

\hat{y}_i คือ ค่าที่ได้จากการแทนค่า x ลงในสมการเส้นตรง

n คือ จำนวนค่า x

เมื่อแทนค่าที่วิเคราะห์ได้ลงในสมการ จะได้ LOD เท่ากับ 44.69 มิลลิโมลต่อลิตร อย่างไรก็ตาม ค่า LOD ที่ได้จากงานวิจัยนี้ยังคงมีค่าสูงกว่าค่า LOD ตามเอกสารอ้างอิง [17]

4.4 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคสในตัวอย่าง

ตารางที่ 4.5 แสดงผลการทดลองในการหาปริมาณในตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่และตัวอย่างปัสสาวะด้วยเครื่องยูวี - วิสเปสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

สารละลายตัวอย่าง	อัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตร
Tonic water 1	0.386
Tonic water 2	0.393
Tonic water 3	0.382
Urine 1	0.105
Urine 2	0.095
Urine 3	0.095

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากกราฟมาตรฐานในรูปที่ 4.13 จะได้สมการเส้นตรงที่จะใช้ในการคำนวณความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง ดังนี้

$$\text{จากสมการเส้นตรง } Y = mX + C$$

เมื่อ Y คือ ค่าการดูดกลืนแสง (absorbance)

m คือ ค่าความชันของกราฟ เท่ากับ 0.0014

C คือ ค่าจุดตัดแกน Y มีค่าเท่ากับ 0.33

X คือ ความเข้มข้น ในหน่วย มิลลิโมลต่อลิตร

เมื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างแล้วนำค่าที่วิเคราะห์ได้แทนลงในสมการ (แทนลงใน Y) จะสามารถคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างได้

ตารางที่ 4.6 แสดงการคำนวณความเข้มข้นที่แท้จริงในสารละลายตัวอย่าง

สารละลายตัวอย่าง	อัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตร	ความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง (X) มิลลิโมลต่อลิตร
Tonic water 1	0.386	39.86
Tonic water 2	0.393	44.86
Tonic water 3	0.382	37.00
Urine 1	0.105	*N.D.
Urine 2	0.095	*N.D.
Urine 3	0.095	*N.D.

หมายเหตุ : *N.D. = ไม่สามารถตรวจวัดได้

จากการศึกษา เมื่อนำอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตรของสารละลายตัวอย่างมาแทนลงในสมการ $y = 0.0014x + 0.33$ สามารถคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างได้ ดังตารางที่ 4.6

จากตารางที่ 4.6 จะพบว่า เครื่องดื่มเกลือแร่ทั้ง 3 ตัวอย่าง มีความเข้มข้นอยู่ในช่วงความเป็นเส้นตรงที่ทำการศึกษา คือ 1 – 300 มิลลิโมลต่อลิตร ส่วนตัวอย่างปัสสาวะทั้ง 3 ตัวอย่าง มีความเข้มข้นที่ไม่อยู่ในช่วงความเป็นเส้นตรงที่ทำการศึกษา จึงไม่สามารถตรวจวัดปริมาณกลูโคสได้ ทั้งนี้เนื่องมาจากมีช่วงความเข้มข้นที่ต่ำกว่าช่วงความเป็นเส้นตรงและอาจเกิดจากการรบกวนขององค์ประกอบในตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

5.1.1 ในงานวิจัยนี้ได้สังเคราะห์อนุภาคทองระดับนาโน โดยใช้ Turkevich method เป็นวิธีสังเคราะห์ที่ง่ายกว่าแบบอื่นๆ และใช้ 3-aminophenylboronic acid (APBA) เป็น functionalizer สำหรับการตรวจวัดกลูโคส และอาศัยการเกิดการรวมตัวกัน (aggregation) ของอนุภาคทองระดับนาโน ทำให้เห็นสีของสารละลายเปลี่ยนไปจากสีแดงเป็นสีม่วงตามความเข้มข้นของกลูโคสที่เพิ่มขึ้น

5.1.2 การพัฒนาวิธีวิเคราะห์โดยการประยุกต์ใช้อนุภาคทองระดับนาโนเพื่อหาปริมาณกลูโคสในตัวอย่างปัสสาวะด้วยหลักการ ยูวี – วิซิเบิล สเปกโทรโฟโตเมทรี ซึ่งการหาปริมาณกลูโคสสามารถทำได้โดยการสร้างกราฟมาตรฐาน ได้ช่วงความเป็นเส้นตรง 0 – 300 มิลลิโมลต่อลิตร ได้สมการเชิงเส้น $Abs. = 0.0014[glucose] + 0.33$ มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.9877 ในการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคสในตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่และในตัวอย่างปัสสาวะ จะทำโดยนำมาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน ซึ่งมีช่วงความเป็นเส้นตรง เท่ากับ 0 – 300 มิลลิโมลต่อลิตร ส่วนในการศึกษาความเที่ยงแสดงให้เห็นว่าวิธีนี้มีความเที่ยงสูง (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับร้อยละ 3.07) และได้ประยุกต์ใช้วิธีนี้เพื่อหาปริมาณกลูโคสในเครื่องดื่มเกลือแร่และตัวอย่างปัสสาวะที่มีการเติมกลูโคสลงไป สำหรับตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่ พบว่า มีค่าร้อยละการวิเคราะห์คืนกลับอยู่ในเกณฑ์พอใช้ (ร้อยละ 83 ถึง 153) และสำหรับตัวอย่างปัสสาวะที่มีการเติมกลูโคส พบว่า ค่าร้อยละการวิเคราะห์คืนกลับยังไม่เป็นที่ยอมรับ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการรบกวนจากองค์ประกอบในตัวอย่าง และจากการศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of detection, LOD) ของงานวิจัยนี้พบว่าเมื่อแทนค่าที่วิเคราะห์ได้ลงในสมการ จะได้ LOD เท่ากับ 44.69 มิลลิโมลต่อลิตร อย่างไรก็ตาม ค่า LOD ที่ได้จากงานวิจัยนี้ยังคงมีค่าสูงกว่าค่า LOD ตามเอกสารอ้างอิง [17] ซึ่งสรุปได้ว่าในการตรวจหาปริมาณกลูโคสในตัวอย่างของงานวิจัยนี้ยังจำเป็นต้องศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

5.1.3 ข้อดีข้อเสียของงานวิจัยนี้

ข้อดี สามารถวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคสโดยไม่จำเป็นต้องใช้เอนไซม์

ข้อเสีย $HAuCl_4 \cdot 3H_2O$ มีราคาแพง ใช้เวลาในการวิเคราะห์ค่อนข้างนาน

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. คิวเวตที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ เมื่อทำการวิเคราะห์แล้ว ควรทำการล้างให้สะอาดก่อนการใช้งานครั้งต่อไป เพราะจะทำให้ค่าที่วัดได้มีการคลาดเคลื่อน
2. ในการเตรียมสารเคมีต่างๆ ควรสวมถุงมือเพื่อป้องกันไม่ให้สารเคมีสัมผัสผิวหนังซึ่งอาจเป็นอันตรายได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- [1] พวงทอง ไกรพิบูลย์. (2014). เบาหวาน (Diabetes mellitus). สืบค้นเมื่อ 20 กุมภาพันธ์ 2558, จาก <http://haamor.com/th/เบาหวาน/#article101>
- [2] American Diabetes Association (2011). *Standards of medical care in diabetes 2011*. Diabetes Care, 34 (Suppl 1): S11-S61.
- [3] Healthwise. (2013). *Blood Glucose*. Retrieved February 20, 2015, from <http://www.webmd.com/diabetes/blood-glucose>
- [4] Yan-Ping Li, Ling Jiang, Tao Zhang, Ming Lin, Dan-Bi Tian, He Huang. *Colorimetric detection of glucose using a boronic acid derivative receptor attached to unmodified AuNPs*. Chinese Chemical Letters, 25 (2014), 77-79.
- [5] ผศ.ดร.พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และศาสตราจารย์เกียรติคุณ ดร.นิธิยา รัตนานพนธ์. น้ำตาลกลูโคส. (สืบค้นเมื่อ 26 ธันวาคม 2557), จาก <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1014/glucose-น้ำตาลกลูโคส>
- [6] <http://science.srru.ac.th/org/sci-elearning/courseonline/4022503/chapter3-glucose.htm> (สืบค้นเมื่อ 26 ธันวาคม 2557)
- [7] วันทนี โลหะประภคกุล. *ตรวจเลือดและปัสสาวะ ลดความเสี่ยง ตอนที่ 6*. สืบค้นเมื่อ 22 มกราคม 2558, จาก www.haamor.com/th/ตรวจเลือดและปัสสาวะ-ลดความเสี่ยง-ตอนที่6/
- [8] มัทนี ชิวเสถียรชัย. *การใช้แถบตรวจปัสสาวะ*. สืบค้นเมื่อ 18 กุมภาพันธ์ 2558, จาก <http://hpc6.anamai.moph.go.th/hpc6/images/stories/psv/F.pdf>
- [9] พรณทิพย์ ต้นติวงษ์. (2554). *ประโยชน์และข้อจำกัดในการตรวจน้ำตาลในเลือดด้วยเครื่องตรวจชนิด อัตโนมัต*. เวชสารโรงพยาบาลมหาราชานครราชสีมา, 35(3) : 175-180.
- [10] ภญ.สุวิชา สร้อยสุวรรณ. (2554). *Gold Nanoparticles* กับการประยุกต์ใช้ทางการแพทย์. วารสารเพื่อการวิจัยและพัฒนา องค์การเภสัชกรรม, 18(4) : 8-9.
- [11] ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ. *นาโนเทคโนโลยีคืออะไร*. สืบค้นเมื่อ 21 มีนาคม 2558, จาก <http://www.nanotec.or.th/th/?p=1137>
- [12] สถาบันนวัตกรรมและกระบวนกรเรียนรู้ มหาวิทยาลัยมหิดล. *ความพิเศษของโลกนาโน*. สืบค้นเมื่อ 21 มีนาคม 2557, จาก <http://www.il.mahidol.ac.th/e-media/nano/Page/Unit2-3.html>
- [13] <http://th.wikipedia.org/wiki/คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า> (สืบค้นเมื่อ 5 กุมภาพันธ์ 2558)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- [14] <http://www.cytodiagnostics.com/store/pc/Gold-Nanoparticle-Properties-d2.htm>
(สืบค้นเมื่อ 19 กุมภาพันธ์ 2558)
- [15] http://archive.lib.cmu.ac.th/full/T/2552/aphys0852pp_ch2.pdf
(สืบค้นเมื่อ 10 กุมภาพันธ์ 2558)
- [16] http://www.il.mahidol.ac.th/e-media/color-light/page4_2.html
(สืบค้นเมื่อ 13 กุมภาพันธ์ 2558)
- [17] Y. Ping Li, L. Jiang, T. Zhang, M. Lin, D. Bi Tian and H. Huang, **Colorimetric detection of glucose using a boronic acid derivative receptor attached to unmodified AuNPs.** Chinese Chemical Letters. 25(2014), pp. 77–79
- [18] K. Rae Lim, J.-Myeon Park, H. Nim Choi and W.-Yong Lee, **Gold glyconanoparticle-based colorimetric bioassay for the determination of glucose in human serum.** Microchemical Journal. 106 (2013), pp. 154–159
- [19] N. J. Lang, B. Liu and J. Liu, **Characterization of glucose oxidation by gold nanoparticles using nanoceria.** Journal of Colloid and Interface Science. 428 (2014), pp. 78–83
- [20] G. Palazzo, L. Facchini and A. Mallardi, **Colorimetric detection of sugars based on gold nanoparticle formation.** Sensors and Actuators B. 161 (2012), pp. 366– 371
- [21] Y. Ma, N. Li, C. Yang and X. Yang, **One-step synthesis of water-soluble gold nanoparticles/polyaniline composite and its application in glucose sensing.** Colloids and Surfaces A : Physicochem. Eng. Aspects 269 (2005), pp. 1–6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

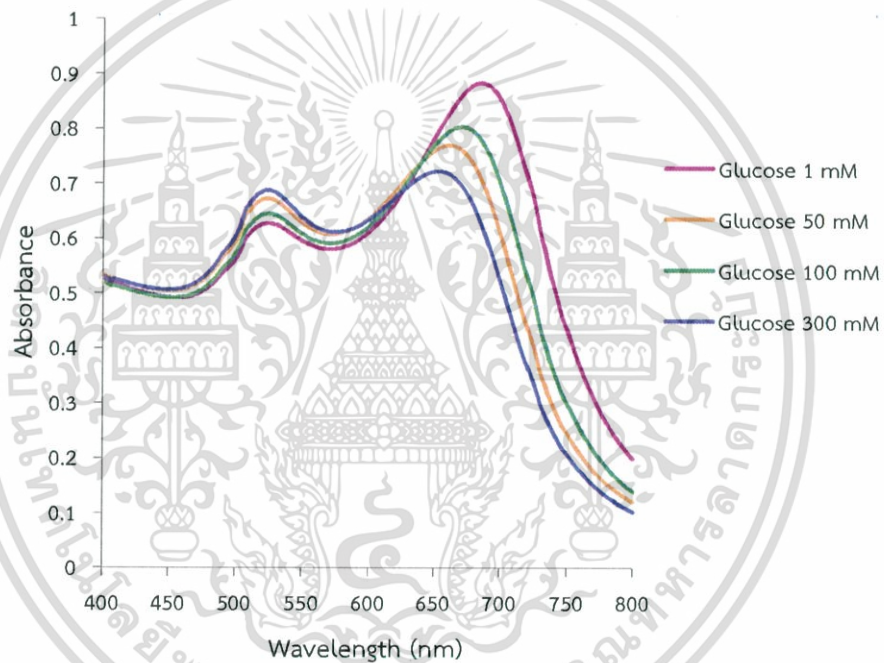


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

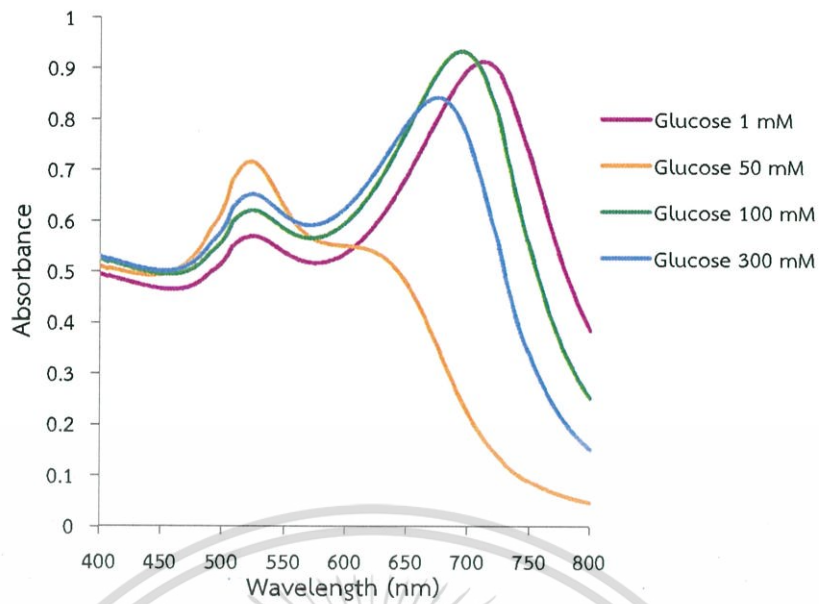
ก. ผลการศึกษาความเข้มข้นของ APBA ที่เหมาะสม

ในการศึกษาความเข้มข้นของสารละลาย APBA ที่เหมาะสม จะใช้ความเข้มข้นสุดท้ายของสารละลาย APBA เป็น 10, 20, 30 และ 40 ไมโครโมลต่อลิตร ตามลำดับ ในการทำปฏิกิริยากับอนุภาคทองระดับนาโนปริมาตร 8 มิลลิลิตร ที่ได้จากการศึกษาปริมาตรของอนุภาคทองระดับนาโนที่เหมาะสมในการตรวจวัด โดยปรับปริมาตรทั้งหมดเป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำปราศจากไอออนและเติมกลูโคสที่มีความเข้มข้น 1, 10, 50, และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร ตามลำดับ พบว่าได้ผลการทดลองการทดลองดังนี้

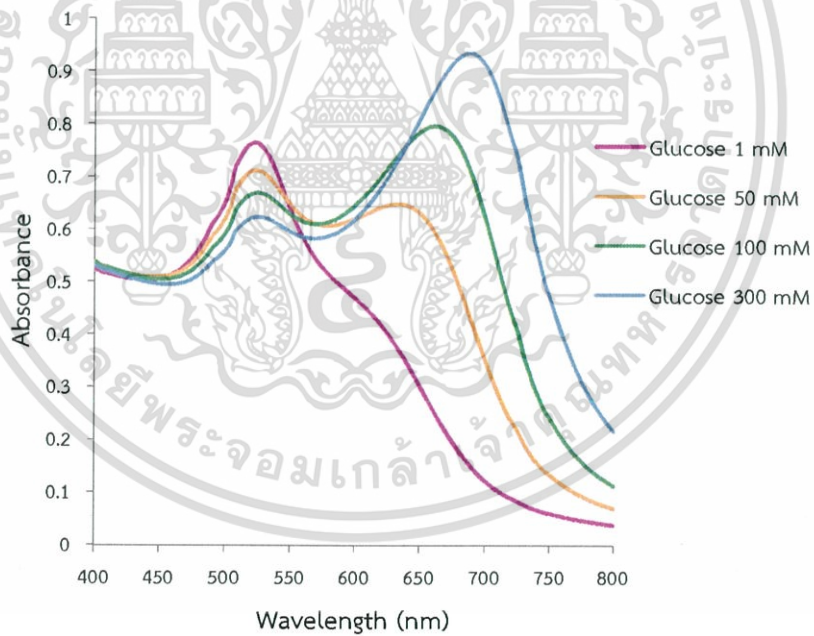


รูปที่ ก.1 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนหลังทำปฏิกิริยากับสารละลาย APBA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลต่อลิตร และสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่มีความเข้มข้น 0, 10, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

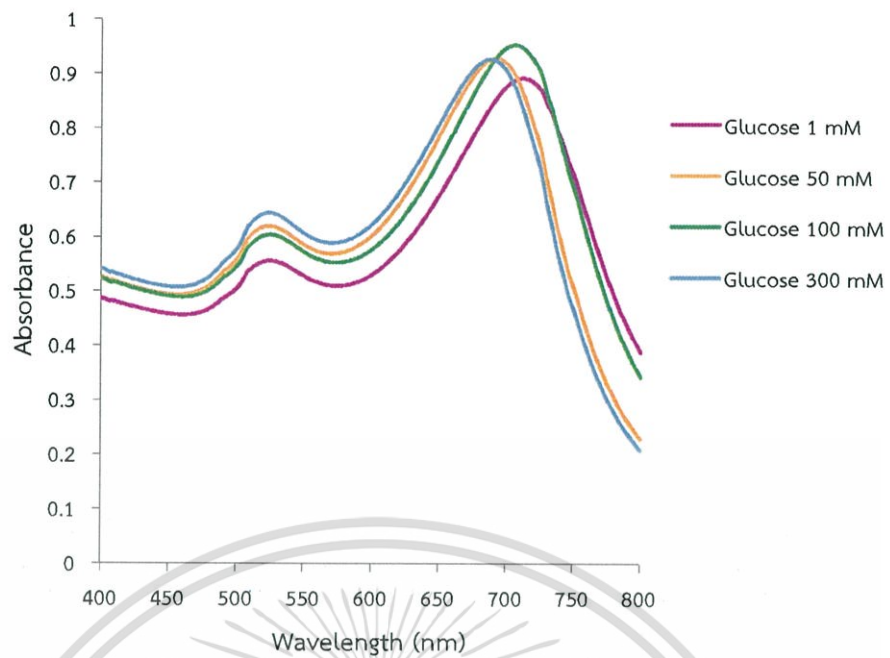


รูปที่ ก.2 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนหลังทำปฏิกิริยากับสารละลาย APBA ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลต่อลิตร และสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 0, 10, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร



รูปที่ ก.3 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนหลังทำปฏิกิริยากับสารละลาย APBA ความเข้มข้น 30 ไมโครโมลต่อลิตร และสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 0, 10, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

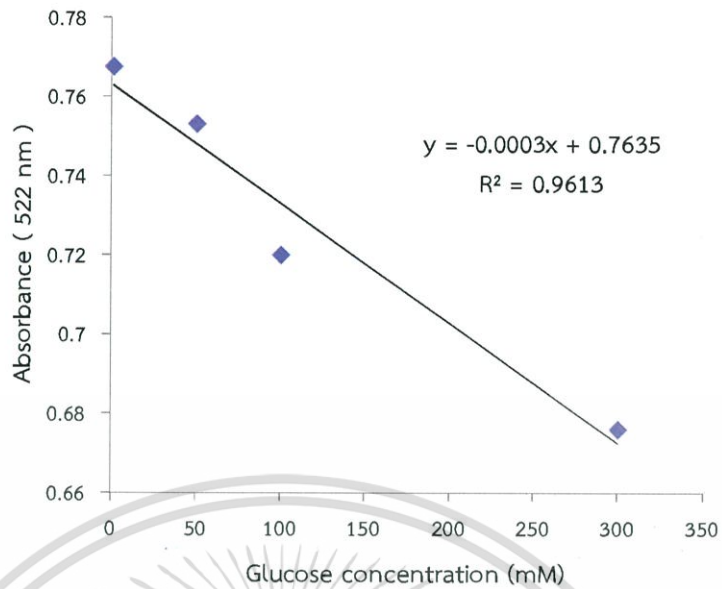


รูปที่ ก.4 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนหลังทำปฏิกิริยากับสารละลาย APBA ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลต่อลิตร และสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 0, 10, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร

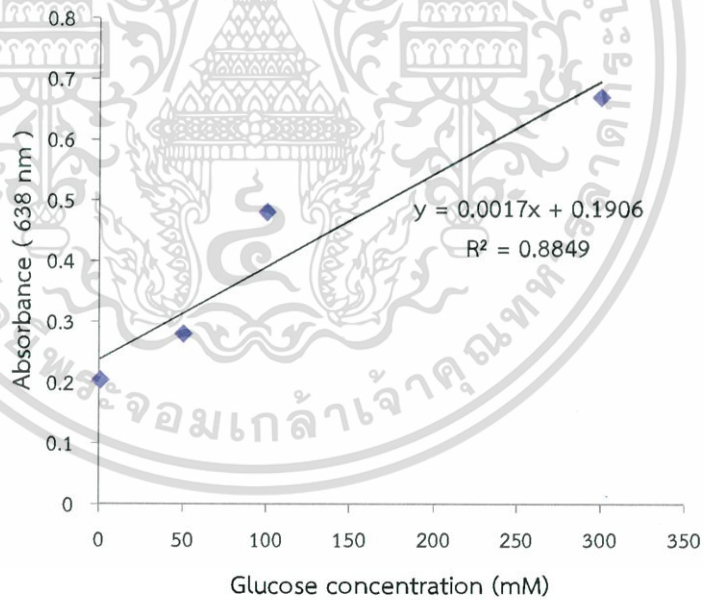
ตารางที่ ก.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 522 นาโนเมตร และ 638 นาโนเมตร ตามความเข้มข้นต่างๆของกลูโคส

ความเข้มข้นของกลูโคส (mM)	ค่าการดูดกลืนแสง (522 nm)	ค่าการดูดกลืนแสง (638 nm)	ค่าการดูดกลืนแสง (638/522 nm)
1	0.7674	0.2049	0.2671
50	0.7530	0.2801	0.3719
100	0.7198	0.4809	0.6681
300	0.6760	0.6705	0.9919

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก.5 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 522 นาโนเมตร ของสารละลาย APBA ที่ความเข้มข้น 30 ไมโครโมลต่อลิตร กับสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 1, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร



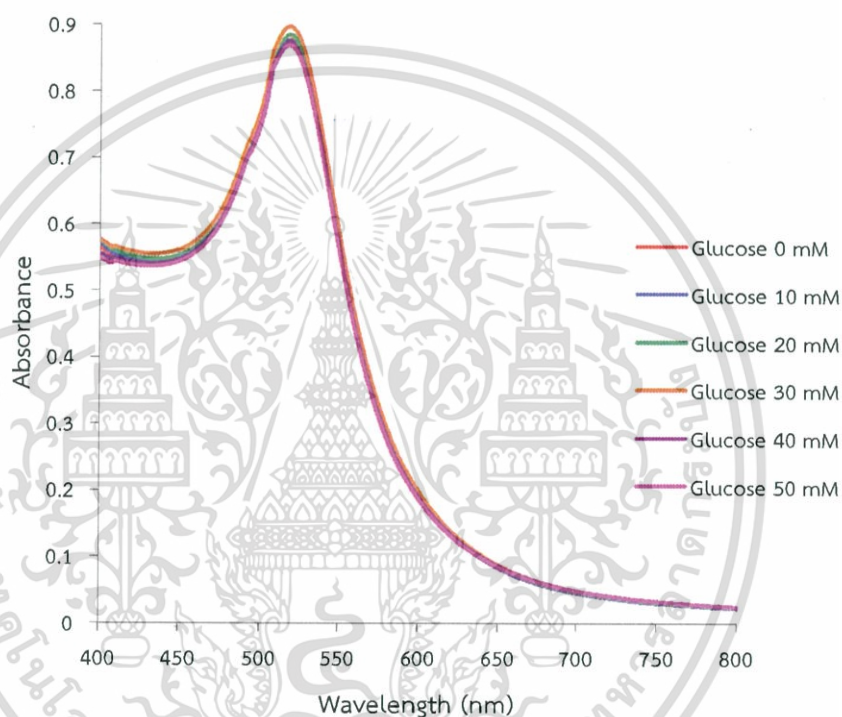
รูปที่ ก.6 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 638 นาโนเมตร ของสารละลาย APBA ที่ความเข้มข้น 30 ไมโครโมลต่อลิตร กับสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 1, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

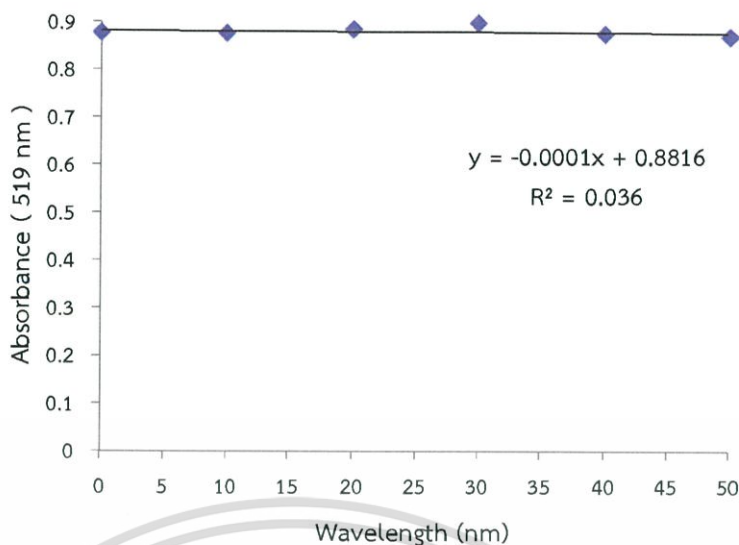
ข. ผลการศึกษาการปรับพีเอชที่สารละลายอนุภาคทองระดับนาโน

ในการศึกษาการปรับพีเอชที่สารละลายอนุภาคทองระดับนาโนก่อนที่จะนำมาทำปฏิกิริยากับ APBA และสารละลายกลูโคส โดยที่จะปรับพีเอชของอนุภาคทองระดับนาโนให้มีค่าพีเอชเป็น 9 พบว่า ได้ผลการทดลองดังนี้

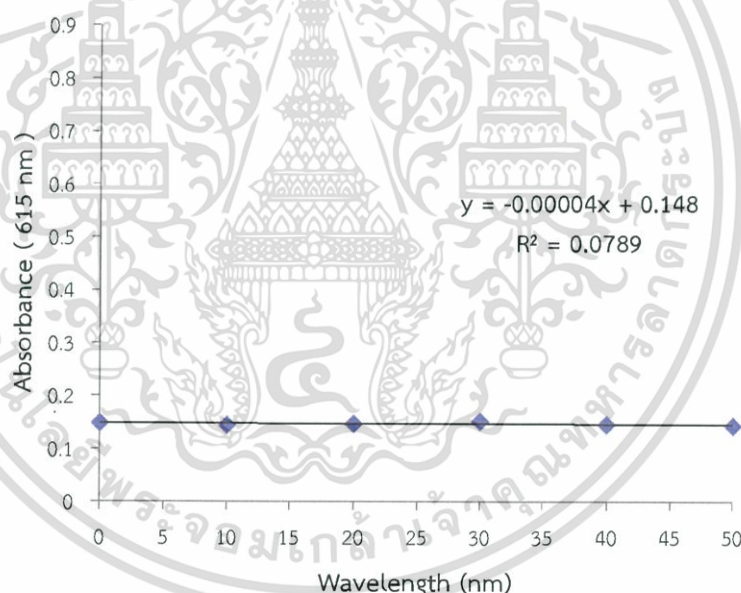


รูป ข.1 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนที่ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน กลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 0 – 50 มิลลิโมลต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข.2 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 519 นาโนเมตร กับ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 0-50 มิลลิโมลต่อลิตร



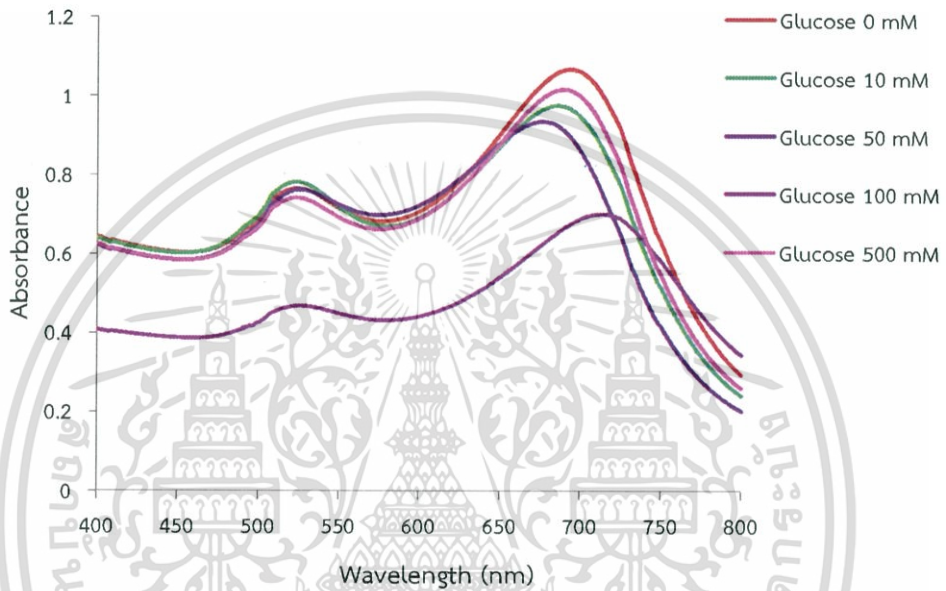
รูปที่ ข.3 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 615 นาโนเมตร กับ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 0-50 มิลลิโมลต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

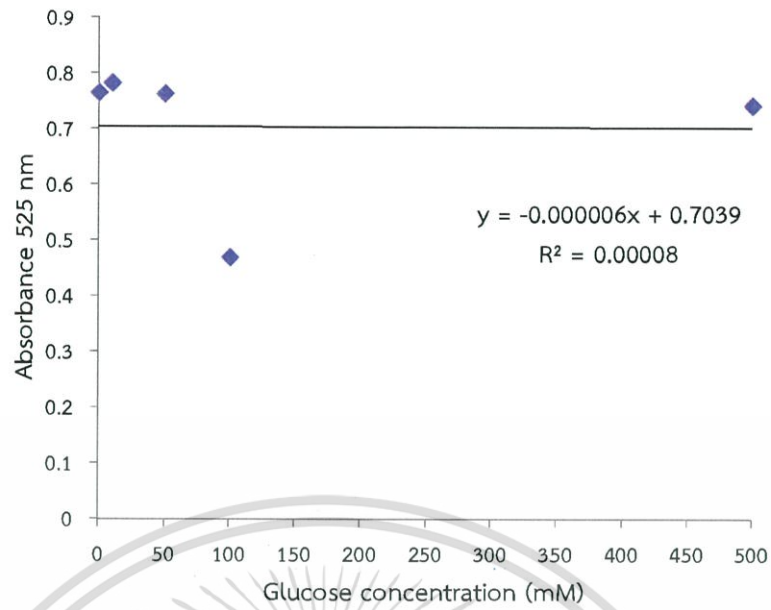
ค. ผลการศึกษาการปรับพีเอชก่อนที่จะเติมสารละลายกลูโคส

ในหัวข้อนี้เป็นการศึกษา โดยจะนำอนุภาคทองระดับนาโนมาทำปฏิกิริยากับสารละลาย APBA ก่อนแล้วจึงค่อยปรับพีเอชของสารละลายให้เป็น 9 พบว่าได้ผลการทดลองดังนี้

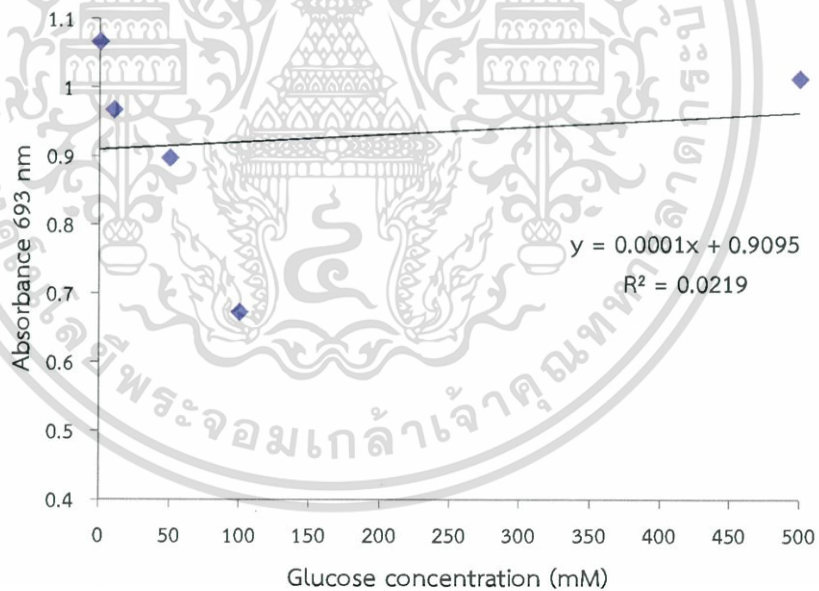


รูปที่ ค.1 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนปริมาตร 8 มิลลิลิตร ในการเกิดอันตรกิริยากับ APBA ที่มีความเข้มข้นสุดท้าย 30 ไมโครโมลต่อลิตร ทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่มีความเข้มข้น 0 - 500 มิลลิโมลต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ค.2 แสดงกราฟมาตรฐานที่พล็อตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตร กับ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 0 - 500 มิลลิโมลต่อลิตร



รูปที่ ค.3 แสดงกราฟมาตรฐานที่พล็อตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 693 นาโนเมตร กับ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 0 - 500 มิลลิโมลต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

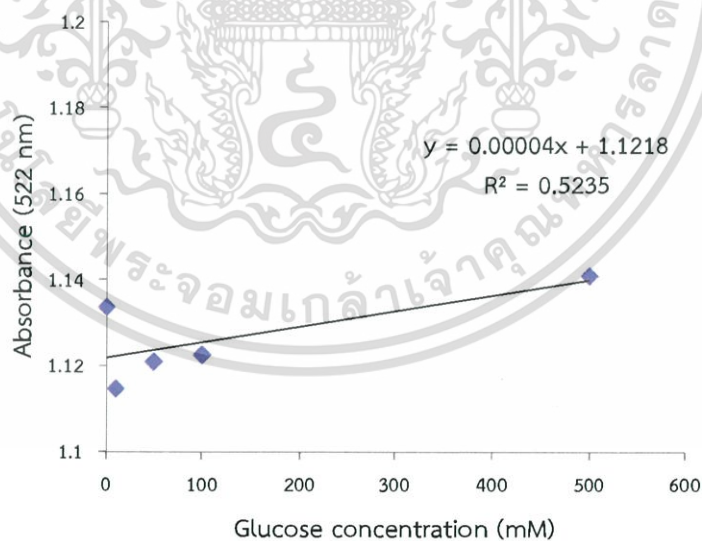
ภาคผนวก ง

ง. ผลการศึกษาการปรับพีเอชที่สารละลาย APBA

ในการศึกษาการปรับพีเอชที่สารละลาย APBA โดยจะปรับพีเอชของ สารละลาย APBA ให้มีค่าพีเอชเป็น 9 ก่อนที่จะนำมาทำปฏิกิริยากับสารละลายกลูโคสในช่วงความเข้มข้นเข้มข้น 0, 10, 50, 100 และ 500 มิลลิโมลต่อลิตร และสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนเป็นลำดับสุดท้าย พบว่าได้ผลการทดลองดังนี้

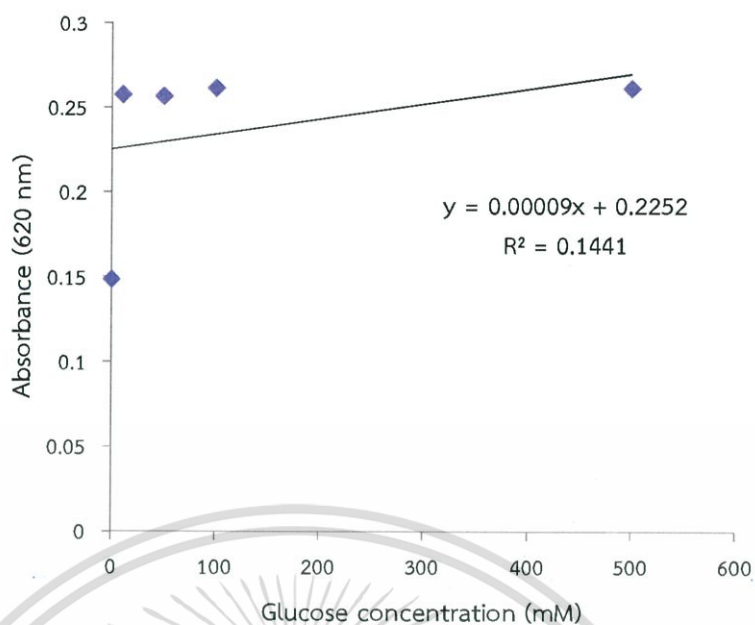
ตารางที่ ง.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 522 นาโนเมตร และ 620 นาโนเมตร ตามความเข้มข้นต่างๆของกลูโคส

ความเข้มข้นของกลูโคส (mM)	ค่าการดูดกลืนแสง (522 nm)	ค่าการดูดกลืนแสง (620 nm)	ค่าการดูดกลืนแสง (620/522 nm)
0	1.135	0.148	0.131
10	1.115	0.258	0.231
50	1.121	0.256	0.229
100	1.123	0.262	0.233
500	1.141	0.261	0.229



รูปที่ ง.1 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 522 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 0, 10, 50, 100 และ 500 มิลลิโมลต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



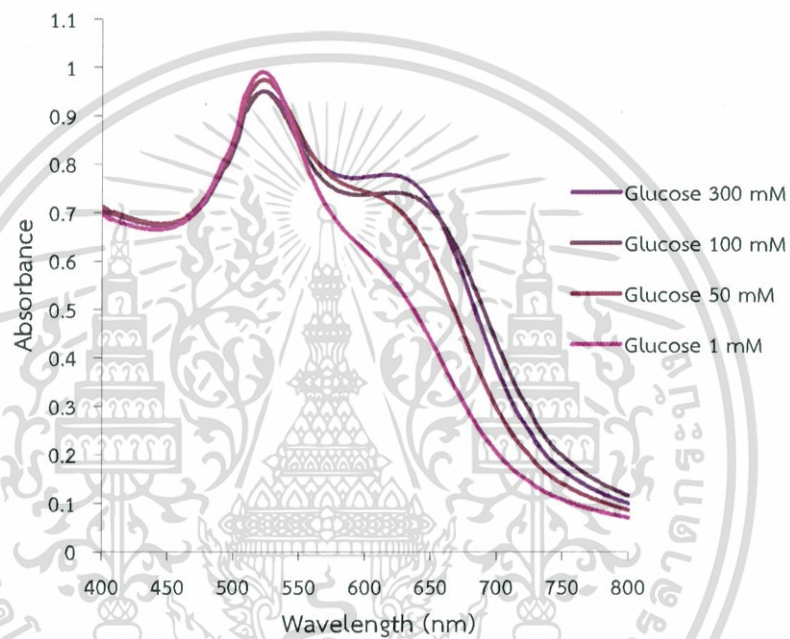
รูปที่ ง.2 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร กับ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 0, 10, 50, 100 และ 500 มิลลิโมลต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

จ. ผลการศึกษาความเป็นไปได้ในการตรวจวัดกลูโคสที่พีเอช 6

จากการศึกษาความเป็นไปได้ในการตรวจวัดกลูโคสที่พีเอช 6 จะใช้สภาวะการทดลองเดียวกับพีเอช 9 โดยจะทำการเติมกลูโคสที่ความเข้มข้น 1, 10, 50, และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร ตามลำดับ และนำมาทำปฏิกิริยากับ APBA ที่ความเข้มข้นสุดท้าย 10, 20, 30 และ 40 ไมโครโมล ต่อลิตร ก่อนที่จะนำมาผสมกับอนุภาคของระดับนาโนที่ปริมาตรที่เหมาะสม พบว่าได้ผลการทดลองดังนี้

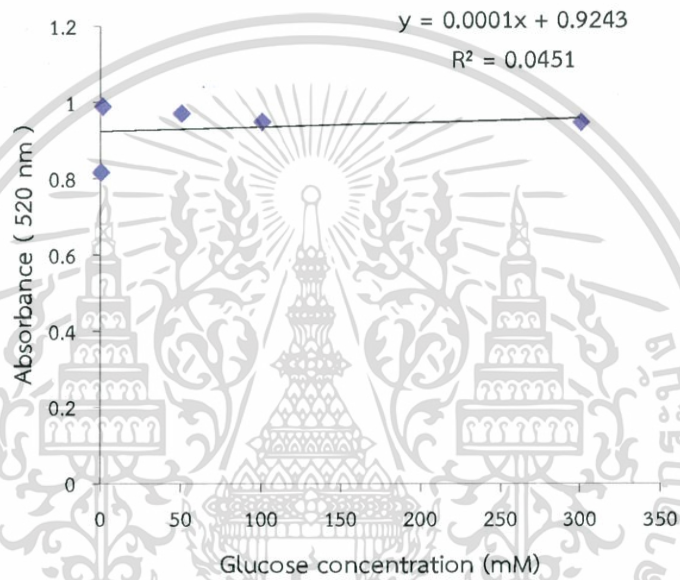


รูปที่ จ.1 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคของระดับนาโนหลังทำปฏิกิริยากับสารละลาย APBA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลต่อลิตร และสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 1, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

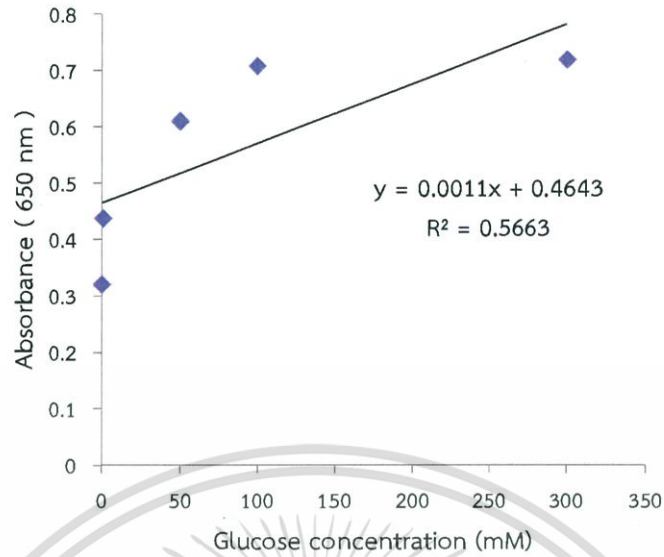
ตารางที่ จ.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร และ 650 นาโนเมตร ตามความเข้มข้นต่างๆของกลูโคส (สารละลาย APBA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลต่อลิตร)

ความเข้มข้นของกลูโคส (mM)	ค่าการดูดกลืนแสง (520 nm)	ค่าการดูดกลืนแสง (650 nm)	ค่าการดูดกลืนแสง (650/520 nm)
1	0.989	0.438	0.443
50	0.972	0.611	0.629
100	0.949	0.708	0.747
300	0.948	0.720	0.759

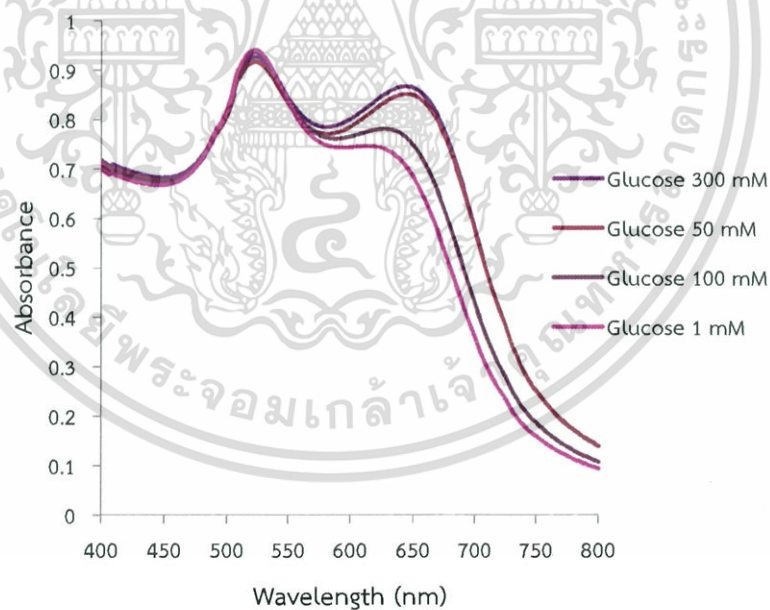


รูปที่ จ.2 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตรของสารละลาย APBA ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลต่อลิตร กับสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 1, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ จ.3 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ของสารละลาย APBA ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลต่อลิตร กับสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 1, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร

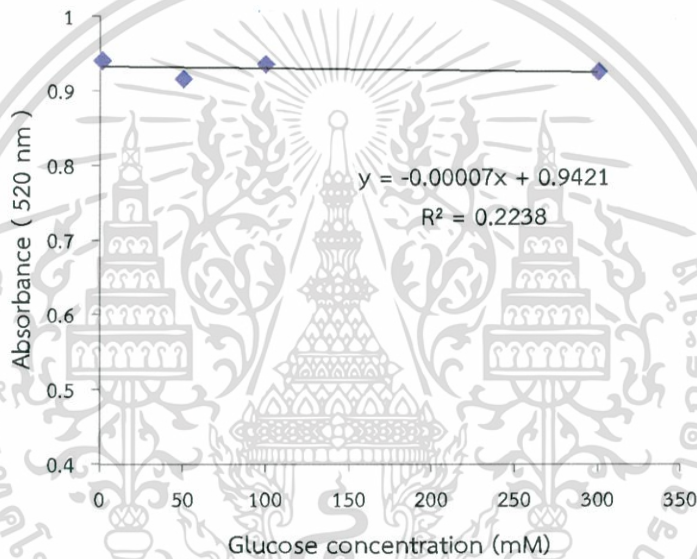


รูปที่ จ.4 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนหลังทำปฏิกิริยากับสารละลาย APBA ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลต่อลิตร และสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 1, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร

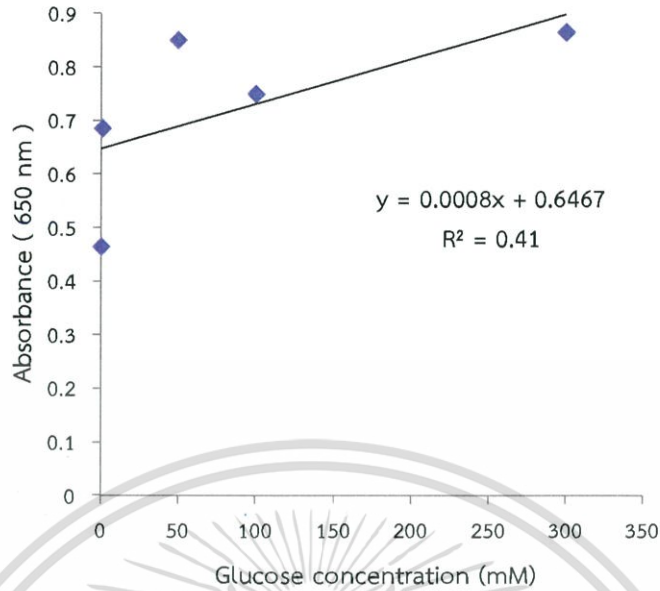
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร และ 650 นาโนเมตร ตามความเข้มข้นต่างๆของกลูโคส (สารละลาย APBA ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลต่อลิตร)

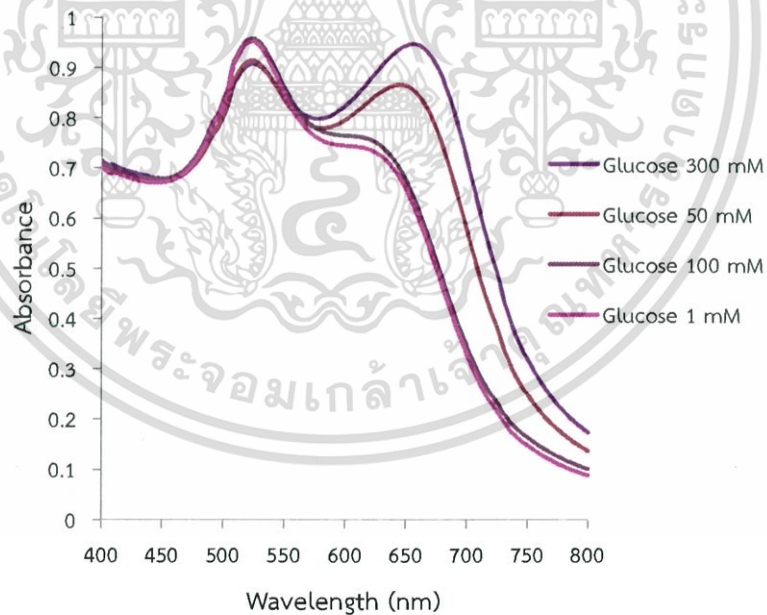
ความเข้มข้นของกลูโคส (mM)	ค่าการดูดกลืนแสง (520 nm)	ค่าการดูดกลืนแสง (650 nm)	ค่าการดูดกลืนแสง (650/520 nm)
1	0.939	0.684	0.728
50	0.916	0.849	0.928
100	0.935	0.749	0.801
300	0.925	0.865	0.935



รูปที่ จ.5 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตรของสารละลาย APBA ที่ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลต่อลิตร กับสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 1, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร



รูปที่ จ.6 แสดงกราฟมาตรฐานที่พล็อตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตรของสารละลาย APBA ที่ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลต่อลิตร กับสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 1, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร

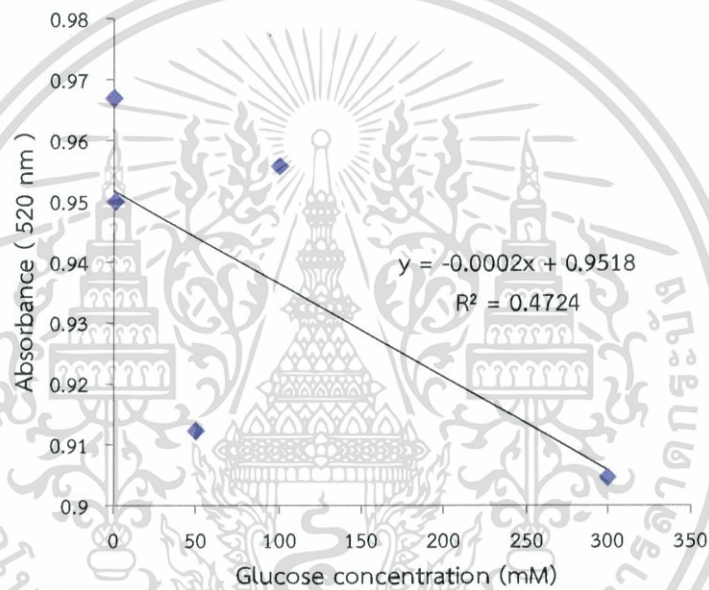


รูปที่ จ.7 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนหลังทำปฏิกิริยากับสารละลาย APBA ความเข้มข้น 30 ไมโครโมลต่อลิตร และสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 0, 10, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

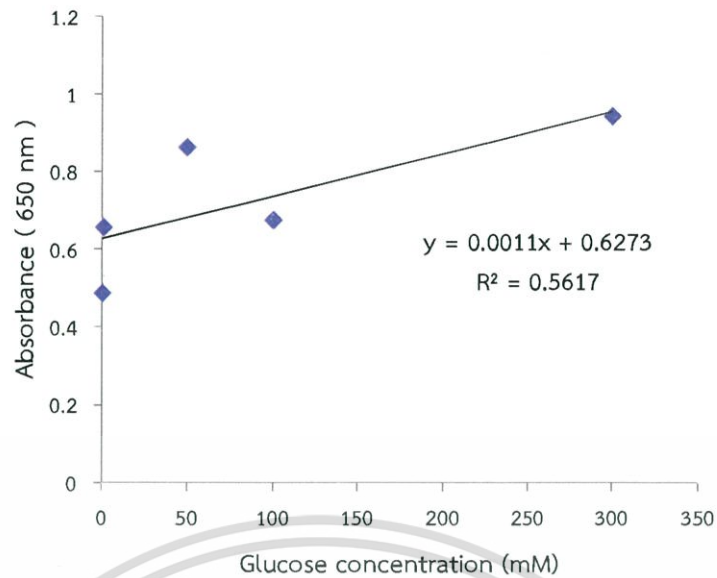
ตารางที่ จ.3 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร และ 650 นาโนเมตร ตามความเข้มข้นต่างๆของกลูโคส (สารละลาย APBA ความเข้มข้น 30 ไมโครโมลต่อลิตร)

ความเข้มข้นของกลูโคส (mM)	ค่าการดูดกลืนแสง (520 nm)	ค่าการดูดกลืนแสง (650 nm)	ค่าการดูดกลืนแสง (650/520 nm)
1	0.949	0.658	0.692
50	0.912	0.864	0.947
100	0.955	0.676	0.707
300	0.905	0.944	1.044

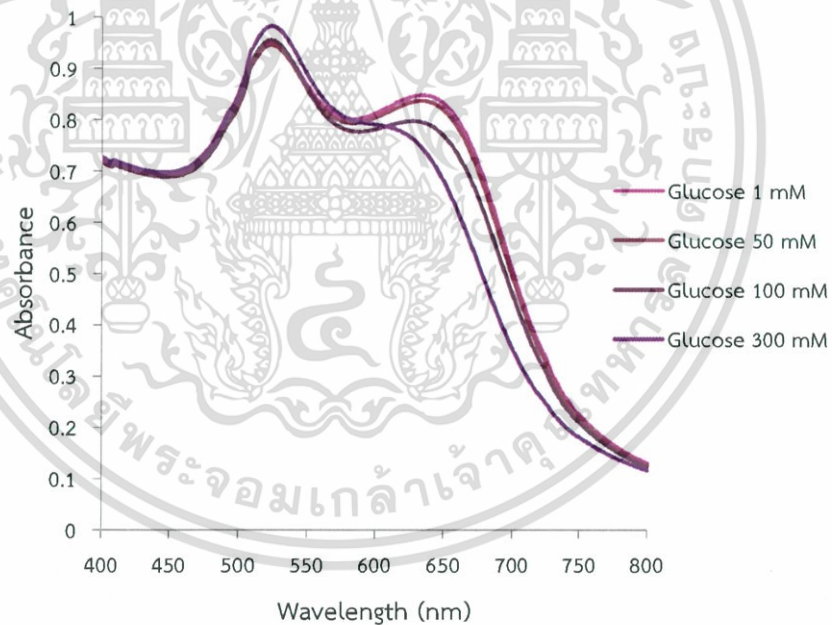


รูปที่ จ.8 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตรของสารละลาย APBA ที่ความเข้มข้น 30 ไมโครโมลต่อลิตร กับสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 1, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ จ.9 แสดงกราฟมาตรฐานที่พล็อตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ของสารละลาย APBA ที่ความเข้มข้น 30 ไมโครโมลต่อลิตร กับสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 1, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร

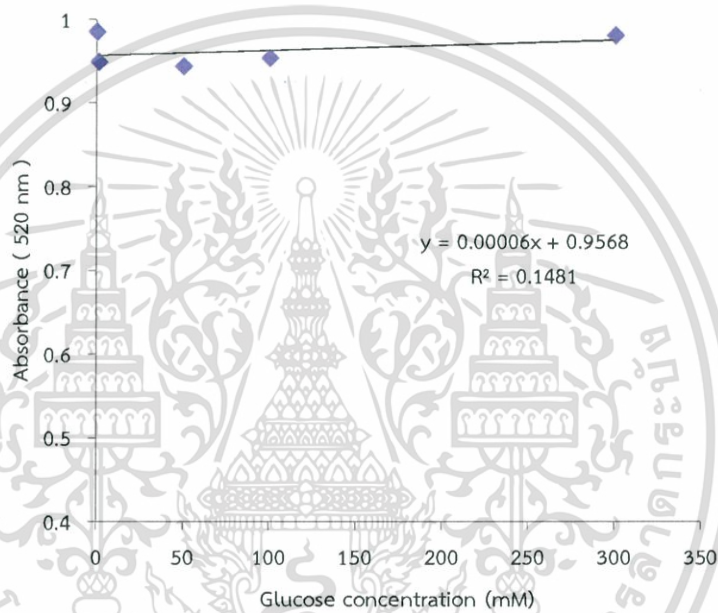


รูปที่ จ.10 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนหลังทำปฏิกิริยากับสารละลาย APBA ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลต่อลิตร และสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 1, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

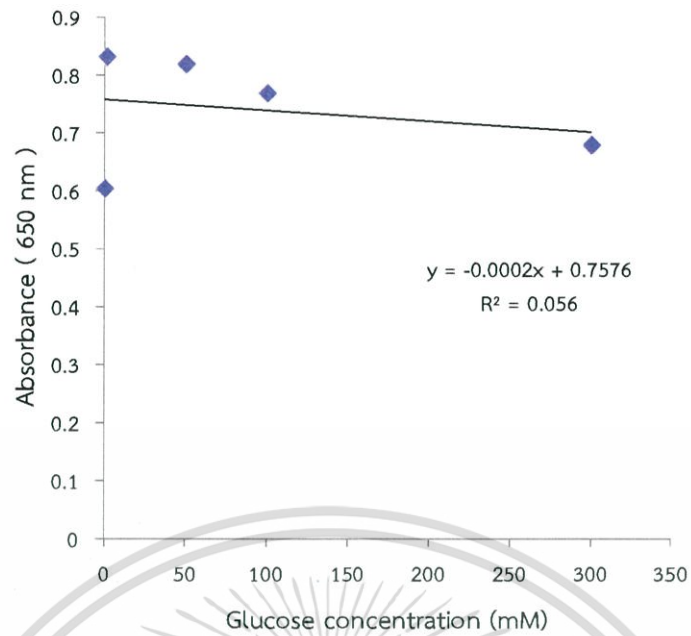
ตารางที่ จ.4 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร และ 650 นาโนเมตร ตามความเข้มข้นต่างๆของกลูโคส (สารละลาย APBA ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลต่อลิตร)

ความเข้มข้นของกลูโคส (mM)	ค่าการดูดกลืนแสง (520 nm)	ค่าการดูดกลืนแสง (650 nm)	ค่าการดูดกลืนแสง (650/520 nm)
1	0.948285	0.831819	0.877182493
50	0.943884	0.819038	0.867731628
100	0.953341	0.769056	0.80669561
300	0.980034	0.680422	0.694284076



รูปที่ จ.11 แสดงกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตรของสารละลาย APBA ที่ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลต่อลิตร กับสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 1, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



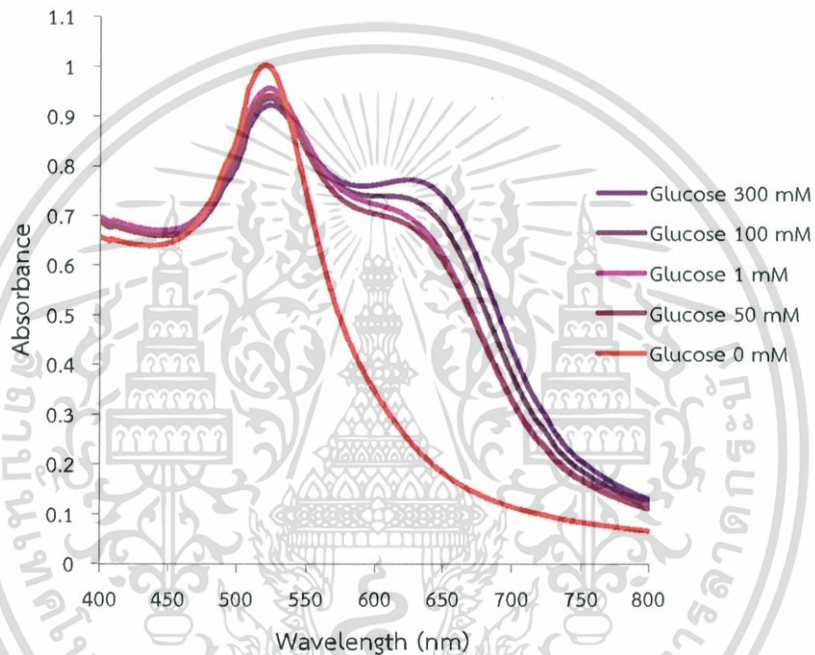
รูปที่ จ.12 แสดงกราฟมาตรฐานที่พล็อตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ของสารละลาย APBA ที่ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลต่อลิตร กับสารละลายมาตรฐาน กลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 1, 50, 100 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฉ

ฉ. ผลการศึกษาการปรับพีเอชที่สารละลายอนุภาคทองระดับนาโน

ในการศึกษาการปรับพีเอชที่สารละลายอนุภาคทองระดับนาโนก่อนที่จะนำมาทำปฏิกิริยากับสารละลาย APBA และสารละลายกลูโคส โดยจะไม่มีมีการปรับพีเอชของอนุภาคทองระดับนาโนเนื่องจากสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนที่สังเคราะห์นั้นมีค่าพีเอชที่ใกล้เคียง 6 พบว่าได้ผลการทดลองดังนี้

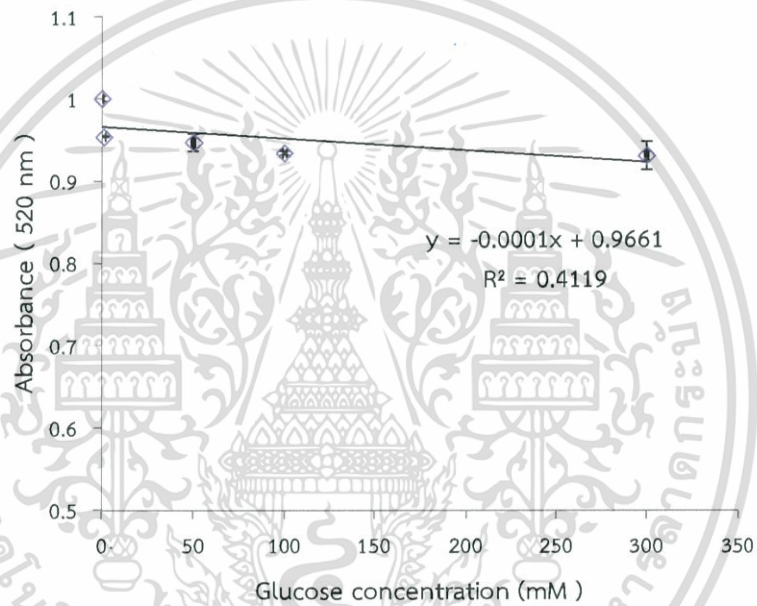


รูปที่ ฉ.1 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนที่ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 0 – 300 มิลลิโมลต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ๑.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ตามความเข้มข้นต่างๆของ กลูโคส

ความเข้มข้นของ กลูโคส (mM)	ค่าการดูดกลืนแสง ครั้งที่ 1	ค่าการดูดกลืนแสง ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐาน (SD)
0	0.998	1.002	1.000	0.003
1	0.955	0.953	0.954	0.001
50	0.954	0.939	0.947	0.010
100	0.936	0.9325	0.934	0.002
300	0.943	0.919	0.931	0.017

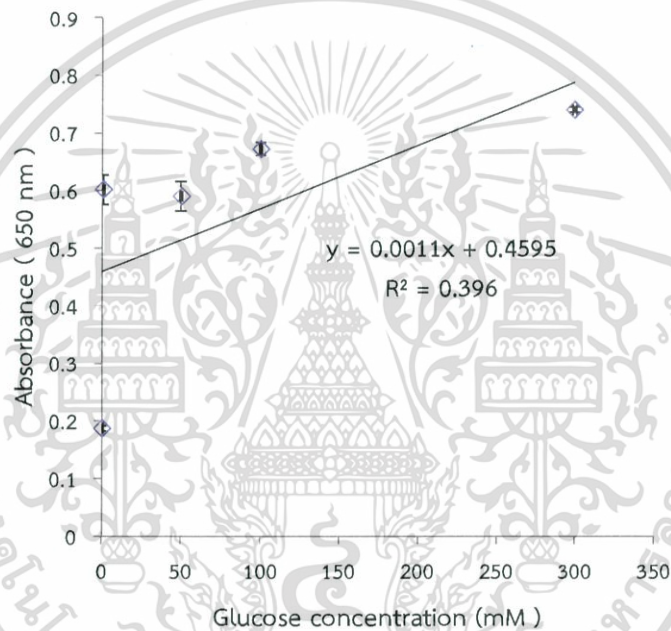


รูปที่ ๑.2 แสดงกราฟมาตรฐานค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 1 - 300 มิลลิโมลต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ๑.๒ แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ตามความเข้มข้นต่างๆของ กลูโคส

ความเข้มข้นของ กลูโคส (mM)	ค่าการดูดกลืนแสง ครั้งที่ 1	ค่าการดูดกลืนแสง ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐาน (SD)
0	0.190	0.184	0.187	0.004
1	0.583	0.619	0.602	0.026
50	0.572	0.609	0.590	0.026
100	0.664	0.680	0.672	0.012
300	0.743	0.737	0.740	0.004



รูปที่ ๑.๓ แสดงกราฟมาตรฐานค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 1 - 300 มิลลิโมลต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ๓.3 แสดงอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตร ตามความเข้มข้นต่างๆของกลูโคส

ความเข้มข้นของกลูโคส (mM)	ค่าการดูดกลืนแสงครั้งที่ 1	ค่าการดูดกลืนแสงครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)
0	0.190	0.187	0.187	0.005
1	0.611	0.650	0.631	0.028
50	0.599	0.648	0.623	0.034
100	0.709	0.729	0.719	0.014
300	0.788	0.802	0.7957	0.010

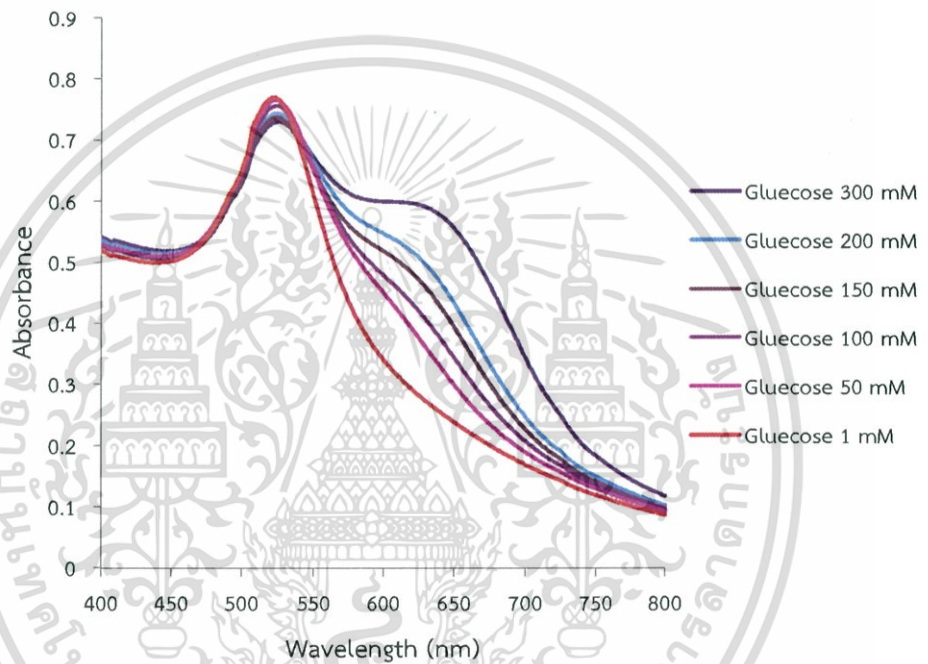


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ข. ผลการศึกษาการปรับพีเอชที่สารละลาย APBA

ในการศึกษาการปรับพีเอชที่สารละลาย APBA โดยไม่มีการปรับพีเอชของสารละลาย APBA ก่อนที่จะนำมาทำปฏิกิริยากับสารละลายกลูโคสในช่วงความเข้มข้นเข้มข้นเข้มข้น 1, 50, 100, 150, 200 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร และสารละลายอนุภาคทองระดับนาโนเป็นลำดับสุดท้าย พบว่าได้ผลการทดลองดังนี้

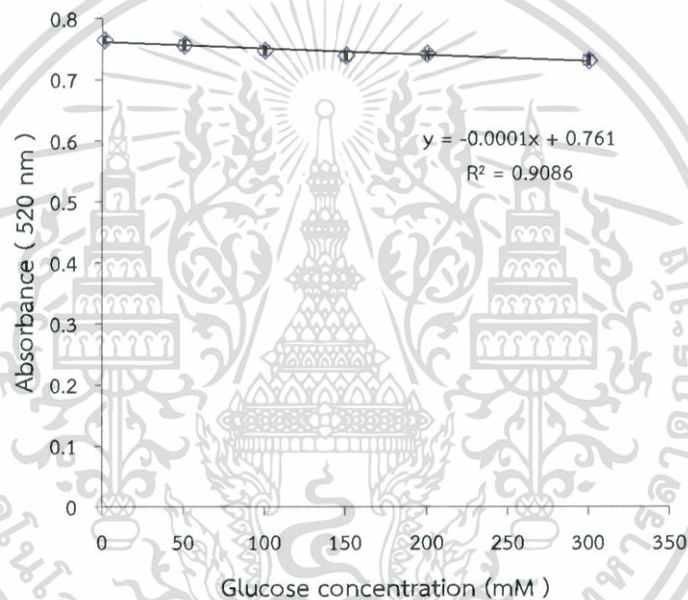


รูปที่ ข.1 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคทองระดับนาโนที่ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 1 – 300 มิลลิโมลต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ตามความเข้มข้นต่างๆของ กลูโคส

ความเข้มข้นของ กลูโคส (mM)	ค่าการดูดกลืนแสง ครั้งที่ 1	ค่าการดูดกลืนแสง ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐาน (SD)
1	0.768	0.761	0.764	0.005
50	0.762	0.750	0.756	0.009
100	0.753	0.742	0.747	0.007
150	0.734	0.745	0.739	0.008
200	0.740	0.745	0.743	0.003
300	0.725	0.737	0.731	0.008

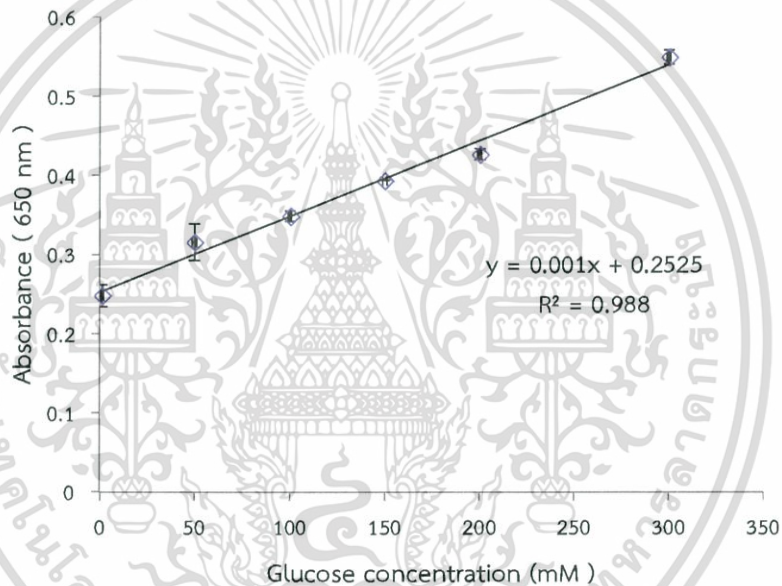


รูปที่ ข.2 แสดงกราฟมาตรฐานค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 1 - 300 มิลลิโมลต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ตามความเข้มข้นต่างๆของ กลูโคส

ความเข้มข้นของ กลูโคส (mM)	ค่าการดูดกลืนแสง ครั้งที่ 1	ค่าการดูดกลืนแสง ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐาน (SD)
1	0.238	0.257	0.248	0.013
50	0.299	0.331	0.315	0.023
100	0.343	0.352	0.348	0.007
150	0.393	0.393	0.393	0.0002
200	0.432	0.422	0.427	0.007
300	0.555	0.543	0.549	0.009



รูปที่ ข.3 แสดงกราฟมาตรฐานค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 1 - 300 มิลลิโมลต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.3 แสดงอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตร ตามความเข้มข้นต่างๆของกลูโคส

ความเข้มข้นของ กลูโคส (mM)	ค่าการดูดกลืนแสง ครั้งที่ 1	ค่าการดูดกลืนแสง ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐาน (SD)
1	0.3105	0.338	0.324	0.019
50	0.392	0.442	0.417	0.035
100	0.456	0.475	0.465	0.013
150	0.536	0.528	0.532	0.006
200	0.583	0.566	0.575	0.012
300	0.765	0.736	0.751	0.020



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ซ

ซ. ผลการศึกษาคุณลักษณะเด่นของวิธี

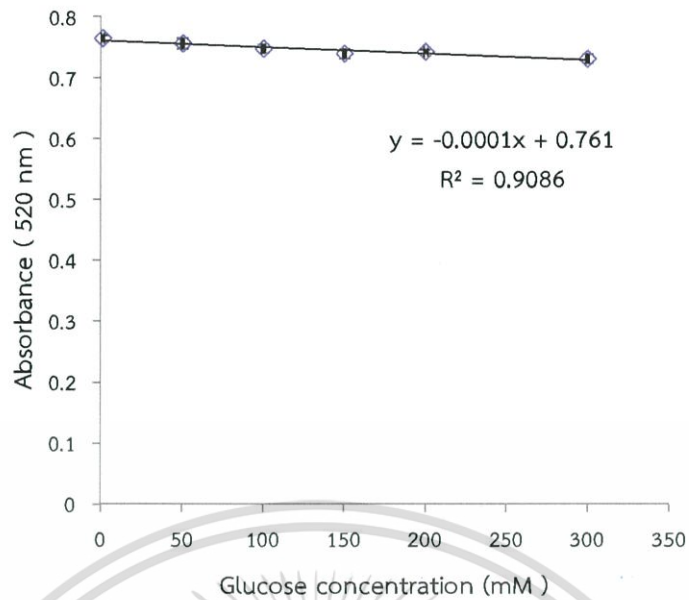
ซ.1 ผลการศึกษาความเป็นเส้นตรง

เมื่อนำอนุภาคของระดับนาโนที่สังเคราะห์ขึ้นได้ไปทำปฏิกิริยากับสารละลาย APBA ที่ความเข้มข้นสุดท้าย 10 ไมโครโมลต่อลิตร และสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 1, 50, 100, 150, 200 และ 300 มิลลิโมลต่อลิตร แล้วนำไปตรวจวัดสเปกตรัมในช่วงความยาวคลื่น 400 ถึง 800 นาโนเมตร พบว่าได้ผลการทดลองดังนี้

ตารางที่ ซ.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ตามความเข้มข้นต่างๆของ กลูโคส

ความเข้มข้นของ กลูโคส (mM)	ค่าการดูดกลืนแสง ครั้งที่ 1	ค่าการดูดกลืนแสง ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐาน (SD)
1	0.768	0.761	0.764	0.005
50	0.762	0.750	0.756	0.009
100	0.753	0.742	0.747	0.007
150	0.734	0.745	0.739	0.008
200	0.740	0.745	0.743	0.003
300	0.725	0.737	0.731	0.008

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

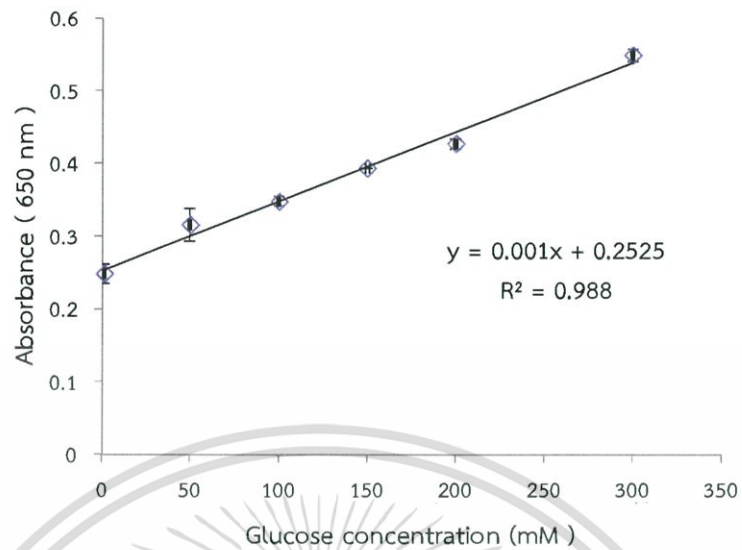


รูปที่ ซ.1 แสดงกราฟมาตรฐานที่พล็อตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ของสารละลาย APBA ที่ความเข้มข้นสุดท้าย 10 ไมโครโมลต่อลิตร กับสารละลายมาตรฐาน กลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 1 - 300 มิลลิโมลต่อลิตร

ตารางที่ ซ.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ตามความเข้มข้นต่างๆของ กลูโคส

ความเข้มข้นของ กลูโคส (mM)	ค่าการดูดกลืนแสง ครั้งที่ 1	ค่าการดูดกลืนแสง ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐาน (SD)
1	0.238	0.257	0.248	0.013
50	0.299	0.331	0.315	0.023
100	0.343	0.352	0.348	0.007
150	0.393	0.393	0.393	0.0002
200	0.432	0.422	0.427	0.007
300	0.555	0.543	0.549	0.009

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ๒.2 แสดงกราฟมาตรฐานที่พล็อตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ของสารละลาย APBA ที่ความเข้มข้นสุดท้าย 10 ไมโครโมลต่อลิตร กับสารละลายมาตรฐาน กลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 1 - 300 มิลลิโมลต่อลิตร

ตารางที่ ๒.3 แสดงอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตร ตามความเข้มข้นต่างๆของกลูโคส

ความเข้มข้นของ กลูโคส (mM)	ค่าการดูดกลืนแสง ครั้งที่ 1	ค่าการดูดกลืนแสง ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐาน (SD)
1	0.3105	0.338	0.324	0.019
50	0.392	0.442	0.417	0.035
100	0.456	0.475	0.465	0.013
150	0.536	0.528	0.532	0.006
200	0.583	0.566	0.575	0.012
300	0.765	0.736	0.751	0.020

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซ.2 ผลการศึกษาความเที่ยง

ในการหาความเที่ยงของวิธี จะพิจารณาจากค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ โดยทำการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานกลูโคส ที่ความเข้มข้น 150 มิลลิโมลต่อลิตร ซ้ำๆเป็นจำนวน 4 ครั้ง จากนั้นหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์

ตารางที่ ซ.4 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 150 มิลลิโมลต่อลิตร

ความเข้มข้นของ กลูโคส (มิลลิโมลต่อลิตร)	Abs 520 nm				Mean	SD	%RSD
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4			
150	0.734	0.745	0.857	0.841	0.794	0.064	8.022

ตารางที่ ซ.5 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 150 มิลลิโมลต่อลิตร

ความเข้มข้นของ กลูโคส (มิลลิโมลต่อลิตร)	Abs 650 nm				Mean	SD	%RSD
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4			
150	0.393	0.393	0.433	0.424	0.411	0.021	5.069

ตารางที่ ซ.6 แสดงความเที่ยงในการหาปริมาณกลูโคสโดยใช้อนุภาคทองระดับนาโน ด้วยเครื่องยูวี - วิซิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์

ความเข้มข้นของ กลูโคส (มิลลิโมลต่อลิตร)	Abs 650/520 nm				Mean	SD	%RSD
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4			
150	0.536	0.528	0.505	0.504	0.518	0.016	3.07

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.3 ผลการศึกษาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ

ตารางที่ ข.7 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตรและ 650 นาโนเมตร ของตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่และตัวอย่างปัสสาวะ

ตัวอย่าง	Abs520 nm			Abs650 nm		
	1	2	เฉลี่ย	1	2	เฉลี่ย
Tonic water 1	0.750	0.742	0.746	0.293	0.283	0.288
Tonic water 2	0.745	0.755	0.750	0.307	0.281	0.294
Tonic water 3	0.763	0.747	0.755	0.282	0.294	0.289
Urine 1	0.752	0.763	0.757	0.075	0.084	0.079
Urine 2	0.749	0.759	0.754	0.073	0.070	0.072
Urine 3	0.762	0.775	0.768	0.071	0.075	0.073

ตารางที่ ข.8 แสดงอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตร และความเข้มข้นที่แท้จริงของตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่และตัวอย่างปัสสาวะ (Sample)

ตัวอย่าง	Abs650/520 nm			SD	%RSD	ความเข้มข้นที่แท้จริง $y = 0.0014x + 0.33$
	1	2	เฉลี่ย			
Tonic water 1	0.391	0.381	0.386	0.007	1.769	39.86
Tonic water 2	0.413	0.372	0.393	0.029	7.307	44.86
Tonic water 3	0.371	0.394	0.382	0.017	4.381	37.00
Urine 1	0.099	0.109	0.105	0.007	7.064	N.D.*
Urine 2	0.098	0.093	0.095	0.003	0.661	N.D.*
Urine 3	0.093	0.097	0.095	0.003	3.444	N.D.*

หมายเหตุ : *N.D. = ไม่สามารถตรวจวัดได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.9 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 และ 650 นาโนเมตร ของตัวอย่าง เครื่องดื่มเกลือแร่ ที่เติมสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลต่อลิตร

ตัวอย่าง	Abs520 nm			Abs650 nm		
	1	2	เฉลี่ย	1	2	เฉลี่ย
Tonic water 1	0.753	0.749	0.751	0.355	0.333	0.344
Tonic water 2	0.742	0.7285	0.735	0.363	0.384	0.374
Tonic water 3	0.739	0.745	0.742	0.372	0.392	0.382

ตารางที่ ข.10 แสดงอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตร และ ความเข้มข้นที่แท้จริงของตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่ ที่เติมสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลต่อลิตร (Spike sample)

ตัวอย่าง	Abs650/520 nm			SD	%RSD	ความเข้มข้นที่แท้จริง $y = 0.0014x + 0.33$
	1	2	เฉลี่ย			
Tonic water 1	0.472	0.444	0.458	0.019	4.222	90.57
Tonic water 2	0.489	0.527	0.508	0.026	5.147	127.00
Tonic water 3	0.503	0.527	0.515	0.016	3.195	132.00

ตารางที่ ข.11 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 และ 650 นาโนเมตร ของตัวอย่าง ปัสสาวะ ที่เติมสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 150 มิลลิโมลต่อลิตร

ตัวอย่าง	Abs520 nm			Abs650 nm		
	1	2	เฉลี่ย	1	2	เฉลี่ย
Urine 1	0.765	0.931	0.848	0.073	0.098	0.086
Urine 2	0.782	0.776	0.779	0.080	0.079	0.079
Urine 3	0.7665	0.7713	0.768884	0.078	0.075	0.077

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.12 แสดงอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650/520 นาโนเมตร และความเข้มข้นที่แท้จริงของตัวอย่างปัสสาวะ ที่เติมสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 150 มิลลิโมลต่อลิตร (Spike sample)

ตัวอย่าง	Abs650/520 nm			SD	%RSD	ความเข้มข้นที่แท้จริง $y = 0.0014x + 0.33$
	1	2	เฉลี่ย			
Urine 1	0.096	0.106	0.101	0.007	7.064	N.D.*
Urine 2	0.102	0.101	0.102	0.001	0.661	N.D.*
Urine 3	0.102	0.097	0.099	0.003	3.444	N.D.*

ตารางที่ ข.13 แสดงความเข้มข้นที่แท้จริงของสารละลายมาตรฐานกลูโคส ที่ความเข้มข้น 50 และ150 มิลลิโมลต่อลิตร (Standard)

ตัวอย่าง	Abs 650/520 nm	ความเข้มข้นที่แท้จริงของสารละลายมาตรฐานกลูโคส $y = 0.0014x + 0.33$
Tonic water	0.417	62
Urine	0.532	144.14

คำนวณหาร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ (%recovery) ตามสูตรดังนี้

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

เมื่อ spiked sample คือ ความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่มีการเติมสารละลายมาตรฐาน
sample คือ ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง
standard คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติมลงไป

ตัวอย่างการคำนวณ ร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับของ tonic water 1

$$\%recovery = \frac{90.57 - .8662}{.8662} \times 100$$

$$\%recovery = 81.79$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



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 M Ω /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

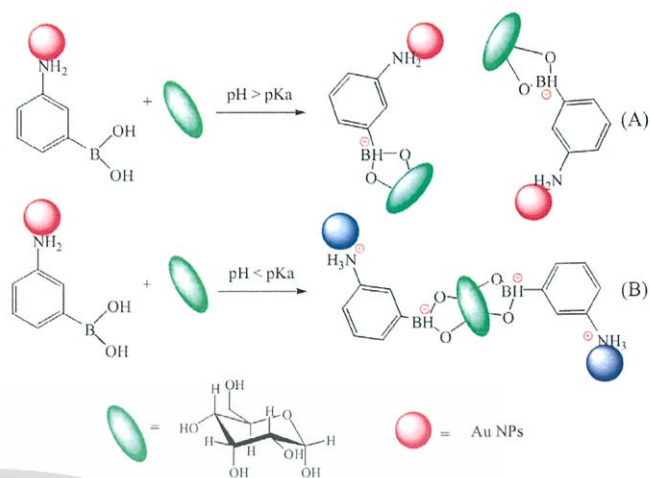
* Corresponding author.

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 mono-dispersed state (Fig. 1B to A). The degree of inhibited aggregation was associated with glucose concentration (Fig. 2A). Here, we used

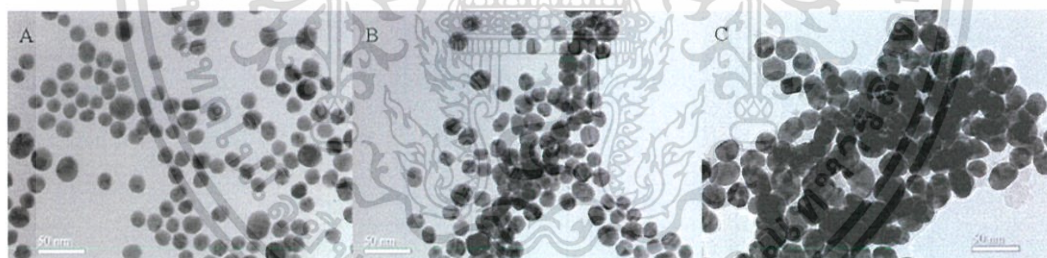


Fig. 1. TEM images of AuNPs with APBA and glucose addition at pH 9 (A) AuNPs with APBA addition only (B) AuNPs with APBA and glucose addition at pH 6 (C).

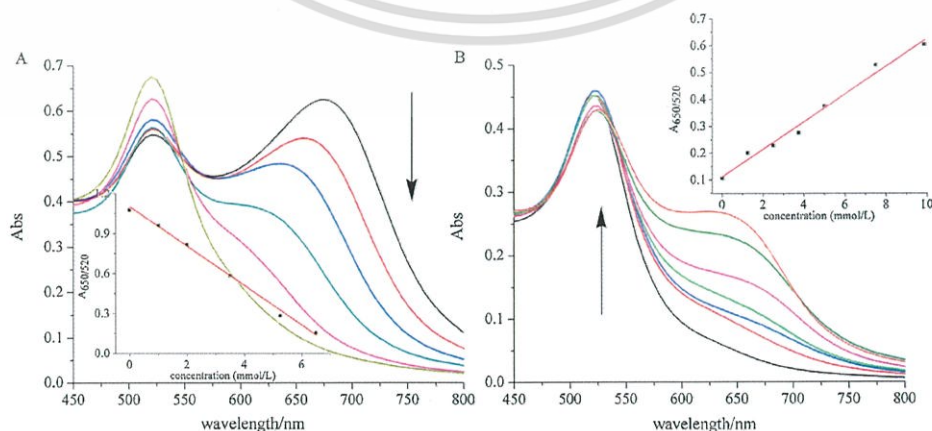


Fig. 2. UV–vis spectra of solutions of 15 nm AuNPs upon the addition of 30 $\mu\text{mol/L}$ APBA and glucose at pH 9 (A); and AuNPs upon the addition of 10 $\mu\text{mol/L}$ APBA and glucose at pH 6 (B).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

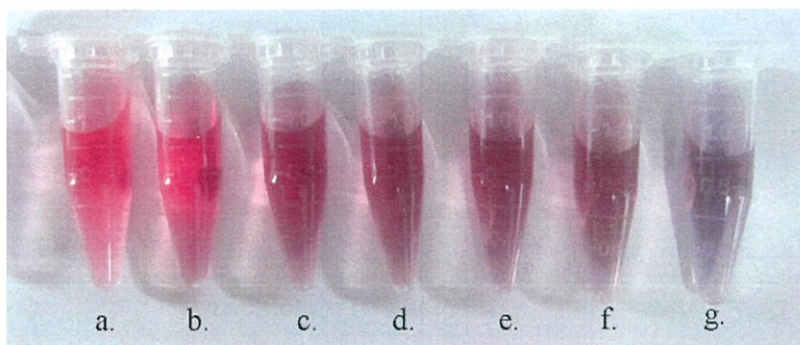


Fig. 3. Visual color changes of 15 nm AuNPs solutions after addition of 8 $\mu\text{mol/L}$ APBA and different concentrations of glucose in artificial saliva. (a) 0 mmol/L, (b) 0.25 mmol/L, (c) 1.5 mmol/L, (d) 2.75 mmol/L, (e) 4.5 mmol/L, and (f) 6.75 mmol/L.

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, Fe₃O₄ magnetic nanoparticles as peroxidase mimetics and their applications in H₂O₂ 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 Pb²⁺ 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. Elghanian, 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 mercaptopyrindine 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. Ancla, 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
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้