

การพัฒนาาระบบซีเควนเชียลอินเจคชันสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณกาบาด้วย  
อนุภาคนาโนซิลเวอร์

DEVELOPMENT OF SEQUENTIAL INJECTION FOR DETERMINATION  
OF GABA BY SILVER NANOPARTICLES



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม  
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ปีการศึกษา 2557

การพัฒนาระบบซีควนเชียลอินเจคชันสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณกาบาด้วย  
อนุภาคนาโนซิลเวอร์

DEVELOPMENT OF SEQUENTIAL INJECTION FOR DETERMINATION  
OF GABA BY SILVER NANOPARTICLES



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม  
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ปีการศึกษา 2557

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

DEVELOPMENT OF SEQUENTIAL INJECTION FOR DETERMINATION  
OF GABA BY SILVER NANOPARTICLES



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      การพัฒนาระบบซีควนเชียลอินเจคชันสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณกาบา  
ด้วยอนุภาคนาโนซิลเวอร์  
Development of Sequential Injection for Determination of  
GABA by Silver Nanoparticles

ชื่อนักศึกษา                    นายภัทรพล      อนันตวิเชียร      รหัสนักศึกษา 54050240  
  นางสาวสุชาดา      ฟุ้งลัดดา            รหัสนักศึกษา 54050302  
  นายอภิชัย            อินทะนิน            รหัสนักศึกษา 54050329

ปริญญา                            วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)  
ภาควิชา                            เคมี  
ปีการศึกษา                        2557  
อาจารย์ที่ปรึกษา                ดร.เสาวภาคย์      ธีราทรง

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้  
โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมี  
อุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2557

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

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การพัฒนาระบบซีควอนเซียลอินเจคชันสำหรับเคราะห์หาปริมาณกาบาด้วยอนุภาคนาโนซิลเวอร์		
ชื่อนักศึกษา	นายภัทรพล	อนันตวิเชียร	รหัสนักศึกษา 54050240
	นางสาวสุชาดา	ฟุ้งลัดดา	รหัสนักศึกษา 54050302
	นายอภิชัย	อินทะนิน	รหัสนักศึกษา 54050329
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)		
ภาควิชา	เคมี		
ปีการศึกษา	2557		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.เสาวภาคย์ อีราทรง		

### บทคัดย่อ

สารกาบาเป็นสารสื่อประสาทประเภทยับยั้งที่สำคัญในระบบประสาทส่วนกลาง มีงานวิจัยพบว่าสารกาบาสามารถลดอาการวิตกกังวล และลดความเสี่ยงของโรคความจำเสื่อมได้ ในปัจจุบันมีผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิดที่เติมสารกาบาลงไปเป็นส่วนประกอบเพื่อเพิ่มคุณภาพและมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์

ในโครงการพิเศษนี้ได้พัฒนาระบบซีควอนเซียลอินเจคชันขึ้นเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณกาบาด้วยอนุภาคนาโนซิลเวอร์ซึ่งถูกล้อมรอบด้วยซิเตท ที่พีเอชประมาณ 3.8 กาบาจะมีประจุเป็นบวก ทำให้สามารถเหนี่ยวนำอนุภาคนาโนซิลเวอร์ให้เกิดการรวมตัวกันได้ด้วยแรงทางไฟฟ้า ส่งผลให้ค่าการกระเจิงแสงเปลี่ยนแปลงไป โดยสามารถตรวจวัดได้ด้วยเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์

วิธีวิเคราะห์นี้เริ่มจากการดูดสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ สารละลายกาบา และอนุภาคนาโนซิลเวอร์เข้าสู่โวลต์คอลลีของระบบ SI จากนั้นผลึกสารละลายเข้าสู่เครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ ตั้งค่าความยาวคลื่นที่ใช้ในการกระตุ้นและการตรวจวัดที่ 300 และ 600 นาโนเมตรตามลำดับ โดยค่าการกระเจิงแสงที่ได้จะแปรผันตามความเข้มข้นของกาบา จากสภาวะที่เหมาะสมกราฟมาตรฐานที่ได้มีช่วงความเป็นเส้นตรงคือ 50-200 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเท่ากับ 0.9956 ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดคือ 19.80 มิลลิกรัมต่อลิตร และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับร้อยละ 0.5966 วิธีวิเคราะห์นี้มีความเป็นอัตโนมัติ มีความแม่นยำสูง และมีอัตราในการวิเคราะห์ตัวอย่างที่รวดเร็วคือ 25 ตัวอย่างต่อชั่วโมง

**คำสำคัญ :** กาบา การกระเจิงแสง ซีควอนเซียลอินเจคชัน สเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ อนุภาคนาโนซิลเวอร์

<b>Title</b>	Development of Sequential Injection for Determination of GABA by Silver Nanoparticles		
<b>Students</b>	Mr.Pattarapon Anantavichian	Student ID 54050240	
	Miss.Suchada Fungladda	Student ID 54040302	
	Mr.Apichai Intanin	Student ID 54050329	
<b>Degree</b>	Bachelor of Science in Industrial Chemistry		
<b>Department</b>	Chemistry		
<b>Academic Year</b>	2014		
<b>Advisor</b>	Dr. Saowapak Teerasong		

### Abstract

Gamma-aminobutyric acid (GABA) is an important inhibitory neurotransmitter in the central nervous system. Some researcher found that this compound can reduce anxiety symptoms and decrease a risk of Alzheimer's disease. Today many food products have added GABA to their ingredient, in order to improve a quality and value to the product.

In this work, a sequential injection (SI) was developed for quantitative analysis of GABA based on citrate-capped silver nanoparticle (AgNPs) sensor. At pH ~3.8, GABA is positively charged. This compound could thus induce the AgNPs to aggregate via electrostatic interaction. This resulted in the degree of light scattering which can be monitored by a spectrofluorometer.

In the method, acetate buffer, solution of GABA and AgNPs were subsequently introduced into a holding coil of SI. After that the solution zone was transferred to the spectrofluorometer, set with excitation and detection wavelengths at 300 and 600 nm, respectively. As results, the intensity of scattering light was proportional to the concentration of GABA. Under optimal condition, the calibration was linear in range of 50-200 mg/L GABA. The coefficient of determination was 0.9956. The limit of detection was 19.80 mg/L and the relative standard deviation was 0.5966%. The method was automated and rapid with a sample throughput of 25 sample per hour.

**Keywords:** GABA, Light scattering, Sequential Injection, Spectrofluorometer, Silver nanoparticle

# กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษนี้ สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี โดยได้รับความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษา ดร.เสาวภาคย์ อีราทรง อาจารย์ประจำสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้คำปรึกษาและข้อเสนอแนะในทุกขั้นตอนของการทำโครงการพิเศษนี้ อย่างใกล้ชิด ซึ่งผู้เขียนต้องขอพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ ที่นี้

ขอขอบคุณ คณะกรรมการสอบโครงการพิเศษ จากสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ซึ่งได้แก่ ดร.ณัฐภูมิ เชิงชั้น และ ดร.เอกรัฐ เดชศรีที่ ให้คำแนะนำเกี่ยวกับการพัฒนาวิธีวิเคราะห์นี้ รวมถึงชี้แนะแนวทางในการจัดทำรูปเล่มโครงการพิเศษ ให้ถูกต้องและเรียบร้อย

สุดท้ายนี้ ขอขอบคุณ บิดา มารดา และครอบครัวที่สนับสนุนและเป็นกำลังใจให้ผู้เขียนด้วยดี เสมอมา



นายภัทรพล อนันต์วิเชียร  
นางสาวสุชาดา พุ่งลัดดา  
นายอภิชัย อินทะนิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ช
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	<b>1</b>
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	1
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	1
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
<b>บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b>	<b>3</b>
2.1 กาบ	3
2.1.1 ข้อมูลทั่วไป	3
2.1.2 คุณลักษณะ	3
2.1.3 แหล่งที่พบ	3
2.1.4 ประโยชน์	4
2.2 อนุภาคนาโนซิลเวอร์ (Silver nanoparticles)	4
2.2.1 นาโนศาสตร์ (Nanoscience)	4
2.2.2 สมบัติทางแสง	4
2.2.3 อนุภาคนาโนซิลเวอร์	5
2.2.4 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์	5
2.2.5 การตรวจสอบคุณลักษณะของอนุภาคนาโนซิลเวอร์	7
2.2.6 การประยุกต์ใช้นาโนซิลเวอร์สำหรับการวิเคราะห์ทางเคมี	7
2.3 ซีควนเชียลอินเจคชัน (Sequential Injection, SI)	8
2.3.1 ข้อมูลทั่วไป	8
2.3.2 หลักการ	9
2.3.3 ข้อดี	11
2.4 สเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ (Spectrofluorometer)	11
2.4.1 องค์ประกอบ	11
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	13
2.5.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับกาบ	13
2.5.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับอนุภาคนาโน	14

# สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
<b>บทที่ 3</b> วิธีการดำเนินการทดลอง	15
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์	15
3.1.1 สารเคมี	15
3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องตรวจวัด	16
3.2 การเตรียมสารละลาย	16
3.2.1 การเตรียมอนุภาคนาโนซิลเวอร์	16
3.2.2 การเตรียมสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์	17
3.2.3 การเตรียมสารละลายสต็อกมาตรฐานกาบา	17
3.3 วิธีดำเนินการทดลอง	17
3.3.1 การออกแบบระบบซีเควนเซียลอินเจคชัน	17
3.3.2 ลำดับขั้นตอนการวิเคราะห์หาปริมาณกาบาโดยอาศัยระบบ ซีเควนเซียลอินเจคชัน	18
3.3.3 การศึกษาอัตราส่วนปริมาตรสารละลายต่างๆที่ดูเข้าไปในระบบ เอสไอเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์	19
3.3.4 การสร้างกราฟมาตรฐานที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสม	20
3.3.5 ประเมินคุณลักษณะเด่นของวิธีวิเคราะห์	21
3.3.5.1 ความเที่ยง (precision) ของวิธีวิเคราะห์	21
3.3.5.2 ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด	21
<b>บทที่ 4</b> ผลการวิจัยและการอภิปรายผล	22
4.1 ผลการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของวิธีวิเคราะห์	22
4.1.1 ผลการศึกษาอิทธิพลของลำดับในการทำปฏิกิริยา	22
4.1.2 ผลการศึกษาอิทธิพลความยาวของมิกซิงคอยล์	24
4.1.3 ผลการศึกษาอิทธิพลของอัตราคาร์ไหล	25
4.1.4 ผลการศึกษาอิทธิพลของระยะเวลาในการบ่มสารละลายกาบา	26
4.1.5 ผลการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์	27
4.1.6 ผลการศึกษาความเข้มข้นของอนุภาคนาโนซิลเวอร์	28
4.1.7 ผลการศึกษาปริมาณของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่เข้าทำปฏิกิริยา	28
4.1.8 ผลการศึกษาความยาวคลื่นแสงที่ใช้กระตุ้น	29
4.2 กราฟมาตรฐานที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสม	31
4.3 ประเมินคุณลักษณะเด่นของวิธีวิเคราะห์	32
4.3.1 ค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์	32
4.3.2 ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด	32
<b>บทที่ 5</b> สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	33
เอกสารอ้างอิง	34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 แสดงปริมาณกาบาในผลิตภัณฑ์อาหารชนิดต่างๆ	4
3.1 แสดงปริมาตรของสารละลายสารแอซิติทบัฟเฟอร์พีเอช 3.80, สารละลายสต็อกมาตรฐาน กาบาความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และอนุภาคนาโนซิลเวอร์เพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน	19
4.1 สรุปรูปสมการเชิงเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์การตัดสีนใจเมื่อใช้ความยาวของมิกซิงคอยล์ ในระบบเอสไอ สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกาบา	25
4.2 สรุปรูปสมการเชิงเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์การตัดสีนใจเมื่อใช้อัตราการไหลที่แตกต่างกัน	26
4.3 สรุปรูปการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสม ในการวิเคราะห์หาปริมาณกาบาด้วยอนุภาค นาโนซิลเวอร์ ภายใต้ระบบซีควนเซียลอินเจกชัน	30



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 สูตรโครงสร้างของกาบา	3
2.2 กระบวนการสั่นของพลาสมอน (Plasmon oscillation) ในอนุภาคทรงกลม	5
2.3 ขนาดต่างๆของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่สังเคราะห์เมื่อส่องผ่าน TEM	7
2.4 แสดงระบบ SI อย่างง่าย และการแพร่ของสารในระบบ	9
2.5 ก.แสดงรูปลักษณะของ Syringe pump และข.แสดงรูปลักษณะของ Multi-selectionvalve	9
2.6 ก.โฮลดีงคอยด์ และ ข.มิกซิงคอยด์	10
2.7 แสดงโพลทรูเซลล์ ที่ใช้ในเครื่องฟลูออโรมิเตอร์	10
2.8 แสดงตำแหน่งขององค์ประกอบในเครื่อง Spectrofluorometer	12
3.1 แสดงระบบระบบซีควนเชียลอินเจคชันที่ได้ออกแบบเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณ กาบแบบอัตโนมัติ	18
3.2 แสดงลำดับท่อไอโซนที่ดูดเข้ามาในโฮลดีงคอยด์	19
4.1 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยารวมตัวของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ซึ่งถูกเหนี่ยวนำ ด้วยกาบาที่ควบคุมพีเอชให้มีประจุเป็นบวก	22
4.2 แสดงผลของลำดับในท่อไอโซนโฮลดีงคอยด์ที่ส่งผลต่อค่าการดูดกลืนแสง ของอนุภาคนาโนซิลเวอร์	23
4.3 แสดงผลของลำดับการทำปฏิกิริยาแบบ sandwich และ non-sandwich ในท่อไอโซน โฮลดีงคอยด์ที่ส่งผลต่อค่าการกระเจิงแสงของอนุภาคนาโนซิลเวอร์	24
4.4 แสดงผลของความยาวของมิกซิงคอยด์ที่ 0, 50, 100, และ 150 เซนติเมตร ซึ่ง ส่งผลต่อค่าการกระเจิงแสงของอนุภาคนาโนซิลเวอร์เมื่อมีกาบาความเข้มข้น ต่างๆกันตามลำดับ	25
4.5 แสดงค่าการกระเจิงแสงของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารละลาย มาตรฐานกาบาที่เตรียมในสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ พีเอช 3.8 ทั้งไว้ที่เวลา 2, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง	26
4.6 แสดงค่าการกระเจิงแสงของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารละลาย มาตรฐานกาบาในสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ pH 3.8 ที่ความเข้มข้น 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 และ 1 โมลาร์	27
4.7 แสดงค่าการกระเจิงแสงของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ความเข้มข้น 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 มิลลิโมลาร์ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารละลายมาตรฐานกาบาในสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ pH 3.8 ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์	28
4.8 แสดงค่าการกระเจิงแสงของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ความเข้มข้น 0.4 มิลลิโมลาร์ที่ปริมาตร 50, 75, 100 และ 125 ไมโครลิตร ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารละลายมาตรฐานกาบาใน สารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ พีเอช 3.8 ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์	29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.9 แสดงค่าการกระเจิงแสงของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ทำปฏิกิริยากับสารละลาย มาตรฐานกาบาโดยใช้แสงกระตุ้นที่มีความยาวคลื่น 225, 250, 275, 300, 325 และ350 นาโนเมตร	29
4.10 แสดงสัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานกาบา ความเข้มข้น 50-200 มิลลิกรัมต่อลิตร	31
4.11 แสดงกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกาบา ในช่วง ความเข้มข้น 50-200 มิลลิกรัมต่อลิตร	31



# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

สารกาบา ( $\gamma$ -Aminobutyric Acid , GABA) เป็นสารสื่อสัญญาณประสาทที่สำคัญในระบบประสาทส่วนกลาง ช่วยลดภาวะเสี่ยงในโรคความจำเสื่อม อาการวิตกกังวล หรือโรคเครียด ป้องกันความดันโลหิตสูง และยับยั้งการแพร่ของเซลล์มะเร็ง [1] โดยปกติสารกาบาชนิดนี้มีอยู่ในระบบประสาทส่วนกลางของมนุษย์อยู่แล้ว ซึ่งสารกาบาสสามารถเกิดขึ้นได้จากกระบวนการทางธรรมชาติที่เปลี่ยนสารกลูตาเมต (Glutamate) ในสมองให้กลายเป็นสารกาบา และจากหลักฐานทางงานวิจัยพบว่าการบริโภคปริมาณกาบาแค่เพียงประมาณ 20-30 มิลลิกรัมต่อวันก็เพียงพอต่อการผ่อนคลายความเครียด ดังนั้นในชีวิตประจำวันจึงสามารถหารับประทานได้จากแหล่งอาหารตามธรรมชาติ เช่น ใบชาแห้ง เมล่อน มะเขือเทศ กิมจิ ข้าวกล้องงอก หรือผลิตภัณฑ์อาหารเสริมและเครื่องดื่มเสริมกาบา เป็นต้น [2]

ปัจจุบันผลิตภัณฑ์อาหารเสริมหลายชนิดที่มีส่วนผสมของกาบา ได้มีการระบุปริมาณกาบาในผลิตภัณฑ์ เพื่อเป็นทางเลือกให้ผู้บริโภคได้เลือกผลิตภัณฑ์นั้นๆ ดังนั้นในกระบวนการผลิต จึงต้องมีขั้นตอนการตรวจสอบและควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ซึ่งเทคนิคการตรวจวัดเพื่อระบุปริมาณกาบาในผลิตภัณฑ์ต่างๆ ในปัจจุบันมีหลากหลายวิธีเช่น เทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟี [3] และเทคนิคซีควนเชียลอินเจคชันอะนาลิซิส (Sequential Injection, SI) [4] โดยทั้งสองเทคนิคมีข้อดีคือ มีความแม่นยำสูง แต่ใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน และมีการทำอนุพันธ์ ทำให้เกิดข้อจำกัดในการวิเคราะห์

ในงานวิจัยนี้ทำการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณกาบา โดยอาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่างกาบากับอนุภาคนาโนซิลเวอร์ ภายใต้ระบบซีควนเชียลอินเจคชัน (Seaquential Injection, SI) จากนั้นติดตามการเปลี่ยนแปลงการกระเจิงแสงของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่แปรผันตรงกับความเข้มข้นของกาบาที่เติมลงไป โดยใช้เครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ ข้อดีของวิธีการตรวจวัดนี้คือ ระบบมีความเป็นอัตโนมัติสามารถตรวจวิเคราะห์ได้อย่างต่อเนื่อง ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงคาดว่า จะได้วิธีตรวจวัดกาบาที่มีความรวดเร็วและถูกต้องแม่นยำ

### 1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

- 1) เพื่อพัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณกาบาโดยใช้ระบบ SI และมีอนุภาคนาโนซิลเวอร์เป็นตัวติดตาม
- 2) เพื่อนำวิธีที่พัฒนาขึ้นไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หากาบาในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมกาบา

### 1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

- 1) ศึกษากลไกการเกิดปฏิกิริยาระหว่างกาบากับอนุภาคนาโนซิลเวอร์
- 2) พัฒนาระบบ SI เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หากาบา
- 3) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หากาบา ภายใต้ระบบ SI
- 4) ประยุกต์ระบบที่พัฒนาขึ้นในการวิเคราะห์หากาบาในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมกาบา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) ทราบกลไกการเกิดปฏิกิริยาระหว่างกาบากับอนุภาคนาโนซิลเวอร์
- 2) ได้ระบบ SI เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หากาบ
- 3) ระบบที่พัฒนาขึ้นสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณกาบในผลิตภัณฑ์อาหาร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

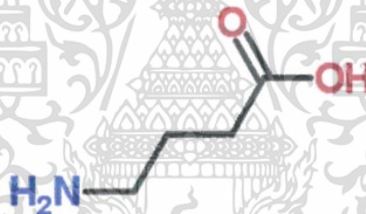
### 2.1 กาบา

#### 2.1.1 ข้อมูลทั่วไป

กาบา (Gamma aminobutyric acid,  $\gamma$ -Aminobutyric acid, 4-Aminobutyric acid, GABA) คือกรดอะมิโนชนิดหนึ่งที่พบได้ในระบบประสาทส่วนกลางของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เป็นสารสื่อประสาทประเภทยับยั้ง (Inhibitory neurotransmitter) ทำหน้าที่รักษาสมดุลในสมอง ทำให้เกิดการผ่อนคลาย และยังกระตุ้นต่อมไร้ท่อ ให้เกิดการผลิตฮอร์โมนที่ช่วยในการเจริญเติบโตหรือ ฮิวแมนโกรทฮอร์โมน (Human growth hormone, HGH)

#### 2.1.2 คุณสมบัติ [5]

กาบาเป็น ผงสีขาวละเอียด ไม่มีกลิ่น สูตรโมเลกุล  $C_4H_9NO_2$  มวลโมเลกุล เท่ากับ 103.120 กรัมต่อโมล ความหนาแน่น เท่ากับ  $1.1 \pm 0.1$  กรัมต่อมิลลิกรัม จุดเดือด จุดหลอมเหลว 247.9 และ 203.7 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เนื่องจากกาบามีหมู่ฟังก์ชัน 2 หมู่ คือ หมู่คาร์บอกซิลิก และ หมู่อะมิโน จึงมีค่าการแตกตัวของกรด (pKa) 2 ค่า โดยค่าการแตกตัวของกรดของหมู่คาร์บอกซิลิก เท่ากับ 4.23 และหมู่อะมิโน เท่ากับ 10.43



รูปที่ 2.1 สูตรโครงสร้างของกาบา

#### 2.1.3 แหล่งที่พบ [2]

กาบาสสามารถพบได้ทั่วไปในอาหารตามธรรมชาติหลายประเภท ซึ่งอาหารแต่ละชนิดจะพบกาบาได้ในปริมาณที่ต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 2.1 เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ตามธรรมชาติจึงทำให้มีปริมาณกาบาไม่แน่นอน และอาจไม่เพียงพอต่อความต้องการที่จะทำให้เกิดผลตามที่ผู้บริโภคคาดหวัง ดังนั้นจึงมีการเติมกาบาลงในผลิตภัณฑ์อาหารชนิดต่างๆ

## ตารางที่ 2.1 ตารางแสดงปริมาณกาบาในผลิตภัณฑ์อาหารชนิดต่างๆ [2]

ผลิตภัณฑ์อาหาร	ปริมาณกาบา (มิลลิกรัม/100 กรัม)
ใบชาแห้ง	100-200
แตงเมล่อน	74.5
มะเขือเทศ	62.6
กิมจิ	59.4
ซีอิ๊วโกแลต	14.5
ข้าวกล้องงอก	10.0
ฟักทอง	9.7
เต้าหู้	6.4

### 2.1.4 ประโยชน์ [1, 2]

กาบาทำหน้าที่รักษาสมดุลในสมอง โดยการยับยั้งการกระตุ้นสารสื่อประสาทที่ทำให้จิตใจเกิดการกระวนกระวาย จึงได้มีการนำมาเป็นยากล่อมประสาทเพื่อลดความเครียด ความวิตกกังวล และอาการนอนไม่หลับ ทั้งยังช่วยลดความดันโลหิต ป้องกันโรคอ้วน โดยการลดปริมาณไตรกลีเซอไรด์ในตับและกระแสเลือด เพิ่มเมแทบอลิซึมของ เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol) และ แอซิทัลดีไฮด์ (Acetaldehyde) มีคุณสมบัติเป็นสารระงับกลิ่น ช่วยทำให้การทำงานของตับและไตดีขึ้น ช่วยขับปัสสาวะ และยังรักษาโรคลมชัก และอาการอัลไซเมอร์ได้อีกด้วย ปริมาณกาบาที่ได้รับเพื่อให้มีประสิทธิภาพ (Effective dose) เพื่อผ่อนคลายความเครียดอยู่ที่ประมาณ 20-30 มิลลิกรัม แต่อย่างไรก็ตามในปัจจุบันยังไม่มีกำหนดร้อยละของปริมาณกาบาที่ร่างกายควรได้รับในแต่ละวัน (% Daily Value) จึงทำให้มีการเติมกาบาลงในอาหารเสริมมากถึงถึง 500 มิลลิกรัม

## 2.2 อนุภาคนาโนซิลเวอร์ (Silver nanoparticles)

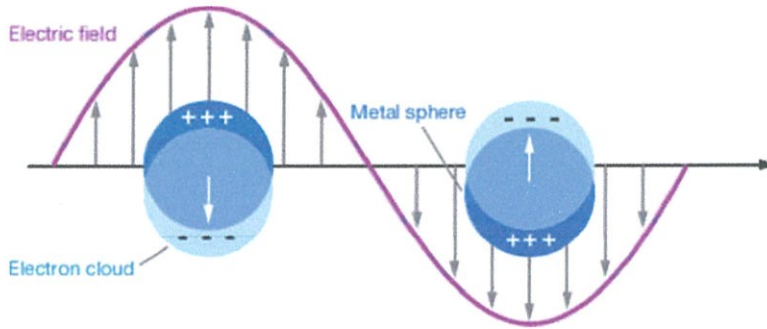
### 2.2.1 นาโนศาสตร์ (Nanoscience)

นาโนศาสตร์เป็นการศึกษาเกี่ยวกับอนุภาคของอะตอมหรือโมเลกุลที่มีขนาดอยู่ในระดับนาโนเมตร (1 นาโนเมตรเท่ากับ 1 ในพันล้านเมตร หรือ  $10^{-9}$  เมตร) เมื่ออนุภาคมีขนาดเล็กมากในระดับนาโนแล้ว จะทำให้คุณสมบัติต่างๆของอนุภาคเปลี่ยนแปลงไป

### 2.2.2 สมบัติทางแสง [6]

สมบัติทางแสงเป็นสมบัติเฉพาะตัวของโลหะและโลหะออกไซด์ สมบัติทางแสงของอนุภาคนาโนซิลเวอร์สามารถอธิบายได้ด้วยปรากฏการณ์ เซอร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์ (Surface Plasmon Resonance, SPR) ซึ่งเป็นคลื่นความหนาแน่นของประจุที่เกิดจากการสั่นของอิเล็กตรอนอิสระ ที่มีลักษณะการสั่นพร้อมเพรียงกัน เป็นปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นบริเวณผิวรอยต่อของโลหะกับสารไดอิเล็กทริกเช่น ระหว่างอนุภาคเงินกับอากาศหรือสารละลาย โดยที่ ขนาด ยอดคลื่น และความกว้าง ของสเปกตรัมพลาสมอนเรโซแนนซ์ของอนุภาคต่างๆ จะขึ้นกับ ขนาด รูปร่าง ประเภทของวัสดุ และสภาพแวดล้อมรอบๆอนุภาคนั้น อนุภาคนาโนซิลเวอร์จะมีสีเหลืองเข้ม แทนที่จะเป็นสีเงินวาว อย่างไรก็ตามโลหะส่วนใหญ่จะมีความถี่เรโซแนนซ์อยู่ในช่วงใกล้รังสียูวีซึ่งอยู่นอกสเปกตรัมของช่วงแสงที่มองเห็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.2 การสั่นของพลาสมอน (Plasmon oscillation) ในอนุภาคทรงกลม  
(ที่มา: <http://ulbread2.tistory.com/103>)

รูปที่ 2.2 กระบวนการสั่นของพลาสมอน แสดงให้เห็นการกระจัดของกลุ่มประจุอิเล็กตรอน (Conduction electron charge cloud) สัมพันธ์กับนิวเคลียสเมื่อได้รับแสงหรือคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า ดังนั้นกลุ่มอิเล็กตรอนอิสระจะถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการสั่นพ้อง โดยความถี่ของการสั่นนี้ขึ้นอยู่กับความหนาแน่นของอิเล็กตรอน (Electron density) มวลสัมพัทธ์อิเล็กตรอน (Effective electron mass) ขนาด รูปร่างของการกระจายของประจุ (Charge distribution)

### 2.2.3 อนุภาคนาโนซิลเวอร์ [7]

อนุภาคนาโนซิลเวอร์ เป็นอนุภาคเงินที่สังเคราะห์ขึ้นให้มีขนาดเล็กในระดับนาโนเมตร ทำให้อนุภาคนาโนซิลเวอร์มีสมบัติทางกายภาพและทางเคมีที่แตกต่างไปจากอนุภาคนาโนซิลเวอร์ปกติเช่น อัตราส่วนระหว่างพื้นที่ผิวต่อปริมาตรสูงขึ้น ช่วยให้เกิดปฏิกิริยาเคมีเร็วขึ้น นำไฟฟ้าได้ดีขึ้น และมีสีที่เปลี่ยนไปตามขนาดอนุภาค จากข้อดีที่กล่าวมาทำให้สามารถประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนซิลเวอร์ในการวิเคราะห์ทางเคมีได้หลากหลาย

### 2.2.4 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ [7]

วิธีการเตรียมอนุภาคโลหะนาโน สามารถเตรียมได้หลายวิธีโดยแบ่งเป็นสองแบบใหญ่ๆ ได้แก่

1. แบบบนลงล่าง (Top-Down) เป็นการสร้างจากระดับบนลงล่าง หรือจากขนาดใหญ่ให้เป็นขนาดเล็ก โดยการตัดแบ่งวัตถุขนาดใหญ่ให้เล็กลงจนถึงระดับนาโนเมตรด้วยแรงภายนอก โดยใช้เทคนิคต่างๆ เช่น LASER ablation หรือ Ion irradiation แต่พบว่าวิธีนี้มีข้อจำกัดคือ ควบคุมขนาดและรูปร่างของอนุภาค ได้ยาก

2. แบบล่างขึ้นบน (Bottom-up) เป็นการ สังเคราะห์โดยเริ่มต้นจากการเรียงอะตอมแต่ละอะตอม ประกอบขึ้นเป็นอนุภาคจนมีขนาดนาโนเมตร ด้วยวิธีต่างๆ ทางเคมีเช่นอาศัยหลักการเกิดปฏิกิริยารีดักชันของสารละลาย และยังแบ่งย่อยได้เป็น 7 วิธี คือ

1. การบด (Grinding) เป็นกระบวนการเตรียมผงละเอียดด้วยการลดขนาดทางกลของอนุภาคขนาดใหญ่ให้มีขนาดเล็กลง เช่น การบดย่อยด้วยลูกบอล การบดย่อยแบบลูกกลิ้งแรงอัดสูง การบดย่อยแบบเจต หรือแม้กระทั่งการบดด้วยมือ

2. อาร์กดิสชาร์จ (Arc discharge) เป็นการจ่ายไฟฟ้ากระแสตรงตกรวมระหว่างแท่งโลหะสองแท่ง จะทำให้เกิดประกายไฟหรือสถานะพลาสมาขึ้นระหว่างแท่งโลหะนี้ ภายใต้บรรยากาศปกติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หรือกระทำในตัวกลางที่เป็นของเหลว ผลลัพธ์คือได้อนุภาคนาโนของโลหะตรงบริเวณกลางๆ ขั้วของแท่งโลหะ ส่วนการควบคุมขนาด อาจทำได้โดยการควบคุมอุณหภูมิและความสม่ำเสมอของพลาสมา

3. ลิโทกราฟี (Lithography) เปรียบเหมือนกับการแกะสลักหรือการวาดแบบบนพื้นผิวของแข็ง ซึ่งเทคโนโลยีลิโทกราฟีเป็นวิธีการหลักที่ถูกนำมาใช้ในวงการอุตสาหกรรมไมโครอิเล็กทรอนิกส์ แต่สำหรับการศึกษาด้านวิทยาศาสตร์ระดับนาโนนั้น จำเป็นที่จะต้องพัฒนาวิธีการของเทคโนโลยีลิโทกราฟีนี้ให้สามารถก่อสร้างโครงสร้างในระดับนาโนเมตรได้ เพราะ ลิโทกราฟีในระดับนาโนไม่สามารถใช้แสงที่มองเห็นได้ในการจัดการ (แสงที่มีความยาวคลื่นอยู่ในช่วง 400-900 นาโนเมตร ใหญ่เกินกว่าโครงสร้างระดับนาโน) ดังนั้นจึงมีการพัฒนาวิธีการเพื่อให้วิธีการลิโทกราฟีสามารถที่จะผลิตโครงสร้างนาโนได้

4. พัลส์เลเซอร์อะเบลชัน (Pulsed laser ablation) เป็นวิธีการที่ให้คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า คือ แสงเลเซอร์กับโลหะที่ต้องการเตรียมเป็นอนุภาคนาโน จากนั้นบริเวณผิวของโลหะจะมีการดูดกลืนพลังงานที่ตกกระทบจนเกิดความร้อนสูงแล้วมีการเปลี่ยนสถานะเป็นไอของโลหะ จากนั้นเกิดการควบแน่นเป็นอนุภาคนาโนของโลหะ มีรายงานว่า การควบแน่นเป็นอนุภาคสามารถเกิดในตัวกลางที่เป็นของเหลวได้ดี ส่วนการควบคุมขนาดสามารถทำได้โดยการควบคุมด้วยพลังงานของแสงเลเซอร์ ชนิดของตัวกลางที่เป็นของเหลว หรือแม้กระทั่งความเข้มข้นของไอโลหะก็เป็นตัวกำหนดขนาดของอนุภาคได้

5. โฟโตเคมีสทรี (Photochemistry) เป็นการให้แสงที่มีพลังงานพอดีกับพลังงานพันธะ เพื่อให้เกิดการดูดกลืนแสงของสารเคมีตั้งต้น จากนั้นสารตั้งต้นที่มีพลังงานสูงขึ้น จะพยายามจัดการกับพลังงานส่วนเกินนี้ในหลายวิธี ซึ่งหนึ่งในนั้นคือการเกิดปฏิกิริยาเคมี เรียกปฏิกิริยานี้ว่า ปฏิกิริยาโฟโตเคมีคอล (Photochemical reaction) สำหรับการเตรียมอนุภาคนาโนของโลหะ เช่น ทองคำ หรือเงิน โดยปฏิกิริยาโฟโตเคมีคอล จะใช้สารที่ให้อิเล็กตรอนเมื่อถูกกระตุ้นด้วยแสง เช่น โลหะออกไซด์ เมื่อไอออนของโลหะซึ่งมีเลขออกซิเดชันเป็นบวกหรือเป็นสารประกอบโลหะ ได้รับอิเล็กตรอนจากสารที่มีสมบัติตอบสนองต่อแสง หรือ ผู้ให้อิเล็กตรอน (Electron donors) แล้วเปลี่ยนเป็นอะตอมของโลหะที่มีเลขออกซิเดชันเป็นศูนย์ จากนั้นเกิดการควบแน่นเป็นอนุภาคของโลหะ

6. รีดักชันทางเคมี (Chemical reduction) เป็นวิธีการทางเคมีที่เตรียมจากไอออนของโลหะ ซึ่งมีเลขออกซิเดชันเป็นบวกหรือเป็นสารประกอบโลหะที่สามารถละลายในตัวกลางที่เป็นของเหลว และไม่เกิดการรวมตัวกันเป็นอนุภาค เมื่อไอออนของโลหะได้รับอิเล็กตรอนจากตัวรีดิวซ์จะเปลี่ยนเป็นอะตอมของโลหะที่มีเลขออกซิเดชันเป็นศูนย์ จากนั้นเกิดการควบแน่นเป็นอนุภาคของโลหะ ส่วนการควบคุมขนาดสามารถทำได้โดยการควบคุมด้วยอัตราส่วนโดยโมลระหว่างตัวรีดิวซ์กับสารประกอบโลหะ ชนิดของตัวรีดิวซ์ และชนิดของสแตบิไลเซอร์ (Stabilizer)

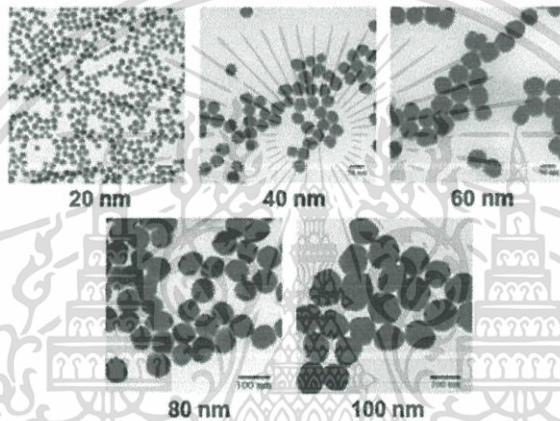
7. โซโนเคมีสทรี (Sonochemistry) เป็นวิธีการทางเคมีที่เกิดจากไอออนของโลหะที่มีเลขออกซิเดชันเป็นบวกหรือเป็นสารประกอบโลหะ ได้รับอิเล็กตรอนจาก แรดิคัล (Radicals) มีงานวิจัยได้อธิบายกรณีที่น่าได้รับคลื่นอัลตราโซนิก จะทำให้เกิดเป็น H และ OH radicals และให้อิเล็กตรอนแก่ไอออนของโลหะแล้วเปลี่ยนเป็นอะตอมของโลหะที่มีเลขออกซิเดชันเป็นศูนย์ จากนั้นเกิดการควบแน่นเป็นอนุภาคของโลหะในตัวกลางที่เป็นของเหลว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในงานวิจัยนี้สังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ด้วยวิธีรีดักชันทางเคมี (Chemical reduction) โดยการเตรียมสารละลายซิลเวอร์ในเตรด ใช้โซเดียมซิเตรดเป็นสเตบิไลเซอร์ จากนั้นจึงใช้โซเดียมโบโรไฮไดรด์เป็นตัวรีดิวซ์

### 2.2.5 การตรวจสอบคุณลักษณะของอนุภาคนาโนซิลเวอร์

เนื่องจากอนุภาคที่มีขนาดนาโนเมตรไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ดังนั้นจึงต้องอาศัยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Electron microscopes) ที่มีกำลังขยายสูง เช่น กล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน (Transmission electron microscope, TEM) ดังรูปที่ 2.4 นอกจากนี้ยังสามารถใช้เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) เมื่ออนุภาคนาโนมีขนาดหนึ่งๆจะดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่นค่าหนึ่ง หากอนุภาคนาโนมีขนาดเปลี่ยนไป ผลจากเซอร์เฟสพลาสมอนเรโซแนนซ์จะทำให้สีของสารละลายเปลี่ยนแล้วทำให้ดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่นที่เปลี่ยนไปด้วย



รูปที่ 2.3 ขนาดต่างๆของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่สังเคราะห์เมื่อส่องผ่าน TEM (ที่มา: <http://nanocomposix.com/pages/nanotoxicology-particle-selection>)

### 2.2.6 การประยุกต์ใช้นาโนซิลเวอร์สำหรับการวิเคราะห์ทางเคมี

การที่อนุภาคนาโนซิลเวอร์มีขนาดเล็กระดับนาโนเมตร ทำให้มีพื้นที่ผิวต่อปริมาตรสูง เปลี่ยนสีตามขนาดของอนุภาค (จากปรากฏการณ์เซอร์เฟสพลาสมอนเรโซแนนซ์) ช่วยเร่งปฏิกิริยาเคมีให้เกิดเร็วขึ้น จากข้อดีดังกล่าวทำให้ในปัจจุบันได้มีการนำอนุภาคนาโนซิลเวอร์มาประยุกต์ใช้สำหรับงานด้านเคมีวิเคราะห์ เพื่อวิเคราะห์หาชนิด และปริมาณของสาร ทั้งด้านสิ่งแวดล้อม อาหาร และการแพทย์

### ด้านสิ่งแวดล้อม [8]

J. Duan และคณะได้ทำการตรวจวัดปรอทใช้การด้านการรวมตัวอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย 6-thioguanine เมื่ออนุภาคนาโนซิลเวอร์เกิดการรวมตัวขึ้นสารละลายจะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีน้ำตาล หากในตัวอย่างนั้นมีปรอทอยู่ ปรอทจะไปทำการด้านการรวมตัวกันของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ ทำให้สารละลายเปลี่ยนจากสีน้ำตาลเป็นสีเหลือง ในงานวิจัยนี้สามารถตรวจวัดปริมาณปรอทได้ตั้งแต่ 0-333 นาโนโมลาร์ ซีตจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดอยู่ที่ 4 นาโนโมลาร์

### ด้านอาหาร [9]

H. Ping และคณะได้พัฒนาวิธีตรวจวัดเมลามีนจากน้ำนมดิบ เริ่มจากการกำจัดไขมันและโปรตีนโดยการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง ก่อนการรวมตัวกับอนุภาคนาโนซิลเวอร์แล้วสีของสารละลายจะเปลี่ยนไปจากเดิมจากสีเหลืองเป็นสีแดงแสดงว่าอนุภาคมีขนาดใหญ่ขึ้น และจะติดตามการเปลี่ยนแปลงสีด้วยยูวีสเปกโตรมิเตอร์ ซีตจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) คือ 2.32 ไมโครโมลาร์ และช่วงความเป็นเส้นตรงเท่ากับ 4.0-170.0 ไมโครโมลาร์

### ด้านการแพทย์ [10]

J. Ling และคณะ ได้ทำการตรวจวัดเบอร์เบอร์รีน ไฮโดรคลอไรด์ โดยอาศัยการเปลี่ยนแปลงสีที่เกิดจากการรวมตัวกันของอนุภาคนาโนซิลเวอร์โดยมีเบอร์เบอร์รีนเป็นตัวเหนี่ยวนำ ในงานวิจัยนี้ได้ทำการสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่มีซีเตรตเป็นสเตบิไลเซอร์จึงทำให้สภาพผิวอนุภาคเป็นลบ ส่วนเบอร์เบอร์รีนจะมีสภาพเป็นบวกทำให้สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการรวมตัวกันของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ได้ เมื่อเกิดการรวมตัวกันจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีจากสีเหลืองไปเป็นสีเขียวถึงสีฟ้าซึ่งจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเบอร์เบอร์รีน จากนั้นจึงนำไปตรวจวัดการกระเจิงของแสง ที่ความยาวคลื่น 396 นาโนเมตร พบว่าสามารถตรวจวัดได้ในช่วง 0.05-0.4 ไมโครโมลาร์ ซึ่งวิธีดังกล่าวสามารถทำได้ง่ายและใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อย จึงทำให้สามารถทำการวิเคราะห์ที่ได้อย่างรวดเร็ว

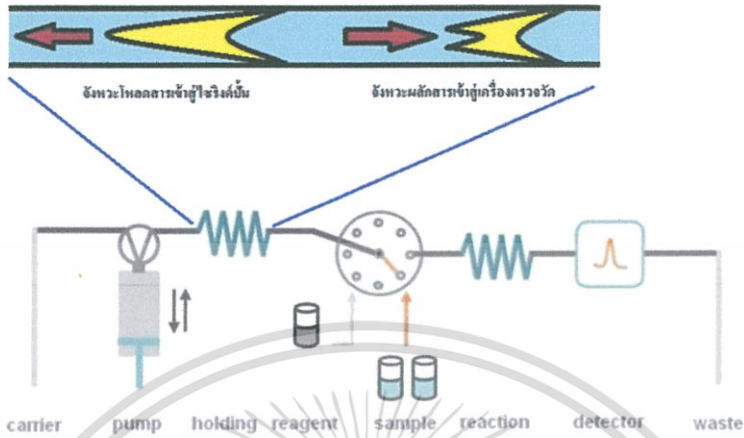
## 2.3 ซีควนเชียลอินเจคชัน (Sequential Injection, SI)

### 2.3.1 ข้อมูลทั่วไป [11]

เทคนิคซีควนเชียลอินเจคชันเป็นเทคนิคเพื่อใช้ส่งถ่ายตัวอย่างและเตรียมตัวอย่างขั้นต้นก่อนการวิเคราะห์แบบออนไลน์ เป็นเทคนิคที่เกี่ยวข้องกับกระแสการไหล (Flow-based techniques) เทคนิคซีควนเชียลอินเจคชันจะเป็นการไหลของกระแสในสองทิศทางที่ไม่ต่อเนื่องกัน (Bi-direction discontinuous flow) การใช้เทคนิคซีควนเชียลอินเจคชัน ช่วยให้การปฏิบัติงานง่ายขึ้น เพราะทำงานเป็นระบบอัตโนมัติ ควบคุมด้วยคอมพิวเตอร์ จึงเหมาะสำหรับการส่งถ่ายตัวอย่างที่ต้องทำหลายขั้นตอน ข้อดีของวิธีซีควนเชียลอินเจคชัน คือมีความแม่นยำ เครื่องมือมีขนาดเล็ก ทำงานได้สะดวก รวดเร็วและลดค่าใช้จ่าย ประหยัดการใช้สารเคมี ไม่ต้องใช้แรงงานในการเตรียมตัวอย่าง เหมาะสมกับการใช้แยกสาร และการทำให้สารละลายมีความเข้มข้นสูงขึ้น อีกทั้งยังสามารถกำหนดการทำงานของตัวอย่างได้หลากหลาย ดังนั้นจึงได้รับความนิยมในการประยุกต์ใช้กับงานวิเคราะห์ในด้านต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นด้าน การแพทย์ เกษษกรรม อุตสาหกรรม สิ่งแวดล้อม การเกษตร และอื่นๆ

### 2.3.2 หลักการ [4, 12]

เทคนิคซีเควินเซียลอินเจคชัน อาศัยหลักการแพร่ของสารในท่อขนาดเล็ก ภายใต้ระบบการไหล (Flow-base system) ระบบ SI อย่างง่ายแสดงดังรูป 2.4



รูปที่ 2.4 แสดงระบบ SI อย่างง่าย และการแพร่ของสารในระบบ  
(ที่มา: <http://www.globalfia.com/>)

ในเทคนิคซีเควินเซียลอินเจคชัน มีระบบซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญ 4 ระบบได้แก่

1. ระบบขับเคลื่อน (Propulsion system) ทำให้เกิดการไหลของกระแสตัวพา (Carrier) เข้าสู่ส่วนต่างๆของระบบด้วยอัตราการไหลที่คงที่ (ควบคุมด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์) โดยใช้ไซริงค์ปั๊ม (Syringe pump)

2. ระบบฉีด (Injection system) ใช้มัลติซีเล็คชันวาล์ว (Multi-selection valve) ซึ่งจะมีช่อง (Valve) ตรงกลางทำหน้าที่เชื่อมต่อระหว่างปั๊มกับช่องอื่นๆ อาจมีจำนวนช่องเป็น 4, 6 หรือ 8 ช่อง ช่องเหล่านี้จะต่อกับท่อสำหรับดูดสารละลายต่างๆเข้าสู่ระบบ และผลึกสารเข้าสู่เครื่องตรวจวัด



ก.

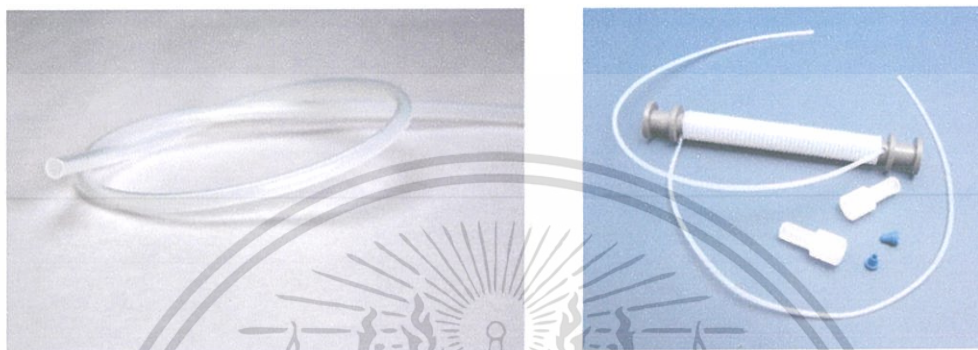
ข.

รูปที่ 2.5 ก. แสดงรูปลักษณะของ Syringe pump และ ข. แสดงรูปลักษณะของ Multi-selection valve

(ที่มา: <http://www.directindustry.com/>)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ระบบการผสม (Mixing system) ในระบบการผสมสารละลายประกอบด้วย โฮลดิ้งคอยล์ (Holding coil) และ มิกซิงคอยล์ (Mixing coil) ซึ่งสร้างขึ้นจากการนำท่อพลาสติกมาดัดเป็นวงกลม โดยหลังจากที่สารละลายตัวอย่างและ รีเอเจนต์ถูกดูดผ่านซีเล็คชันวาล์ว เข้ามาและพักไว้ที่ โฮลดิ้งคอยล์ จะทำให้ของเหลวทั้งหมดนี้เกิดการผสมกันในเบื้องต้น (Pre - mixing) โดยการแพร่ของสาร เมื่อท่อนโซนของเหลวทั้งหมดถูกผลักผ่านมิกซิงคอยล์ จะเกิดการผสมกันมากขึ้น เพราะโดยปกติ มิกซิงคอยล์ จะมีความยาวมากกว่าโฮลดิ้งคอยล์ และมีการขดงอ กันมากกว่าในโฮลดิ้งคอยล์



ก.

ข.

รูปที่ 2.6 ก. โฮลดิ้งคอยล์ และ ข. มิกซิงคอยล์

(ที่มา: <http://www.psanalytical.com/>, <http://www.indiamart.com/>)

4. ระบบตรวจวัด (Detection system) ใช้โฟลทรูเซลล์ (Flow through cell) บรรจุลงในเครื่องตรวจวัด โฟลทรูเซลล์ นี้จะต้องมีรูปร่างลักษณะเหมาะสมกับชนิดของเครื่องตรวจวัดที่ใช้ โดยในงานวิจัยนี้ได้ใช้เทคนิคฟลูออโรเมตรีเป็นเทคนิคในการตรวจวัด



รูปที่ 2.7 แสดงโฟลทรูเซลล์ ที่ใช้ในเครื่องฟลูออโรมิเตอร์ (Fluorometer)

(ที่มา: <http://www.analytix-shop.com/>)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.3.3 ข้อดี

1. มีความเป็นอัตโนมัติมากขึ้น และง่ายต่อการใช้งาน เพราะใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ในการควบคุมทั้งหมด
2. ใช้ปริมาณสารละลายและรีเอเจนต์น้อย เนื่องจากท่อมีขนาดเล็กมาก และสามารถดูดสารในปริมาณน้อยมากได้
3. เกิดการผสมกันได้ดีกว่าในระบบโฟลอินเจกชันอะนาลิซิส เพราะในระบบซีเวนเซียลอินเจกชันมีสองจังหวะ คือจังหวะดูดและจังหวะผลัก ในขณะที่โฟลอินเจกชันอะนาลิซิสมีเพียงจังหวะผลักเพียงอย่างเดียว ท่อโนโซนของสารภายในท่อจึงเกิดการแพร่ดังรูปที่ 2.4

## 2.4 สเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ (Spectrofluorometer) [13]

### 2.4.1 องค์ประกอบ

องค์ประกอบที่สำคัญของเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ มีดังนี้

1. หลอดไฟกำเนิดแสง (light source) ใช้หลอดเมอคิวรีความดันสูง (high pressure mercury lamp) ซึ่งสามารถปล่อยแสงที่มีความเข้มมากที่ความยาวคลื่น 253.6, 280.4, 334.1, 435.8, 546, 577 และ 1,014 นาโนเมตร หรือใช้หลอดเมอคิวรีความดันต่ำ (low pressure mercury lamp) ซึ่งสามารถปล่อยแสงที่เข้มมากที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร แต่นิยมใช้หลอดซีนอน (xenon lamp) มากที่สุดเพราะสามารถปล่อยคลื่นแสงออกมาในช่วงกว้างพอเพียงสำหรับการวิเคราะห์สารต่างๆ ในช่วง 190-1,200 นาโนเมตร แต่อย่างไรก็ตามในระยะหลังได้นิยมใช้หลอดเลเซอร์มากขึ้นเนื่องจากลำแสงเลเซอร์มีความยาวคลื่นจำเพาะ มีขนาดเล็กทำให้สามารถประยุกต์ใช้งานเฉพาะอย่าง ตัวอย่างเช่น ใช้อาร์กอนเลเซอร์ในเครื่องโฟลไซโตมิเตอร์ (flow cytometer) ใช้ฮีเลียม-นีออน เลเซอร์ สำหรับเครื่องวัดขนาดของอนุภาคเป็นต้น และยังมี การนำเอาไดโอดเปล่งแสง (light emitting diode) มาเป็นแหล่งกำเนิดแสง เนื่องจากมีขนาดเล็กสามารถนำไปประยุกต์ใช้งานในเครื่องมือขนาดเล็กได้ดี

2. ตัวแยกแสงตกกระทบ (excitation filter) มีทั้งชนิดที่เป็นตัวกรองแสง (light filter) และเกรตติง มีหน้าที่กรองแสง หรือแยกความยาวคลื่นแสงที่ไม่ต้องการให้ตกกระทบสารตัวอย่างออก ในกรณีที่เป็นเกรตติงมักจะไม่ค่อยมีปัญหาในการใช้งาน เพราะสามารถจำแนกแสงตกกระทบได้ดีและให้แถบแสงที่แคบ แต่ในกรณีที่ใช้ตัวกรองแสงจำเป็นต้องเลือกใช้งานให้ถูกต้องเหมาะสม เพราะให้แถบแสง (band width) ที่ผ่านออกมามีความกว้างประมาณ 15 นาโนเมตร การเลือกใช้งานจึงไม่ควรให้ความกว้างของแถบแสงไปซ้อนทับตัวกรองแสงปล่อยออก (emission filter) เพราะแสงตกกระทบที่ผ่านออกมาจากตัวกรองแสงตกกระทบ อาจจะผ่านตัวกรองแสงปล่อยออก ไปสู่ตัวไวแสงด้วย ทำให้วัดความเข้มของแสงได้สูงกว่าค่าจริง และเพื่อให้การวัดมีความไวมากที่สุด ตัวแยกแสงตกกระทบ ควรให้ลำแสงตกกระทบที่มีความเข้มสูง และควรมีความยาวคลื่นแสงใกล้เคียงกับความยาวคลื่นแสงที่เข้มมากของหลอดไฟกำเนิดแสง

3. คิวเวทท์ ที่ใช้มีทั้งชนิดทรงกระบอก และชนิดสี่เหลี่ยม คิวเวทท์ชนิดสี่เหลี่ยมมีความเหมาะสมในการใช้งานมากกว่า เนื่องจากลดการกระเจิงของแสงตกกระทบ (light scattering) ได้มากกว่าคิวเวทท์ชนิดกลม คิวเวทท์ที่ทำจากควอทซ์สามารถใช้งานได้ในทุกช่วง ความยาวคลื่นแสง ตั้งแต่ 190 นาโนเมตรขึ้นไป จนถึง 2,700 นาโนเมตร คิวเวทท์ที่ทำจากแก้วชนิดบอโรซิลิเกต (borosilicate glass) สามารถใช้งานได้เมื่อแสงตกกระทบมีความยาวคลื่นมากกว่า 320 นาโนเมตร เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

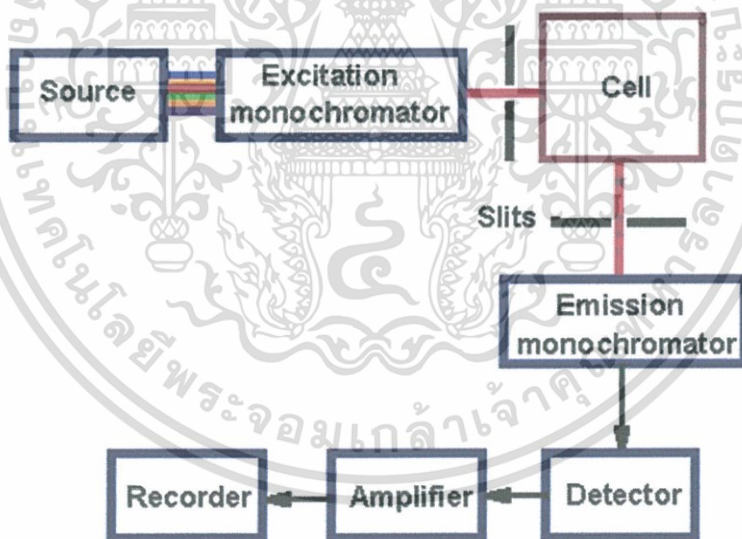
ขึ้นไป จนถึง 2,500 นาโนเมตร คิวเวทท์พลาสติกสามารถใช้งานได้ในช่วงคลื่น แต่ต้องระวังการมีสารวาบแสงที่เจอปนอยู่ ซึ่งอาจทำให้เกิดการรบกวนในช่วงคลื่นของการวัดแสง

4. ตัวแยกแสงปล่อยออก (emission filter) มีทั้งชนิดที่เป็นตัวกรองแสง (light filter) และเกรตติง มีหน้าที่ตัดแสงรบกวนต่างๆ เช่น Rayleigh scattering และ Raman scattering ปล่อยให้เฉพาะความยาวคลื่นที่ต้องการวัดผ่านไปสู่อุปกรณ์วัด

5. ตัวกรองแสง (optical filter) ในเครื่องวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์บางแบบใช้ตัวกรองแสงเพื่อทำหน้าที่กรองคลื่นแสงที่ปล่อยออกมาจากตัวแยกแสงปล่อยออก เพื่อเลือกช่วงความยาวคลื่นบางช่วงให้ตกกระทบตัวไวแสง ทั้งนี้เพื่อเพิ่มความจำเพาะในการวัดให้มากขึ้น

6. ตัวไวแสง (light detector) นิยมใช้โฟโตมัลติพลายเออทิวบ์ เพราะมีช่วงการวัดกว้าง ตั้งแต่ 300-1,000 นาโนเมตร และสามารถขยายจำนวนโฟตอนได้เป็นจำนวนมาก ทำให้แสงฟลูออเรสเซนซ์ที่เปล่งออกมา (emission light) ซึ่งส่วนมากมีความเข้มน้อยมาก ถูกขยายจำนวนโฟตอนให้มากขึ้นจนวงจรอิเล็กทรอนิกส์สามารถวัดได้อย่างถูกต้อง แต่อย่างไรก็ตามในเครื่องมือขนาดเล็กที่ใช้ในภาคสนามนิยมใช้โฟโตไดโอดที่ทำจากสารกึ่งตัวนำเป็นตัวไวแสง เนื่องจากมีขนาดเล็กใช้กระแสไฟฟ้าต่ำ แต่มีข้อจำกัดในการใช้งานบ้าง เพราะสามารถวัดความเข้มของแสงได้ดีเมื่อมีความเข้มของแสงน้อยถึงระดับปานกลาง

7. ภาคแสดงผล สามารถวัดความเข้มของแสงออกมาในหน่วย %T (transmittance) หรือวัดออกมาในหน่วยความเข้มขึ้นในเครื่องมือที่มีระบบคำนวณผลอัตโนมัติ



รูปที่ 2.8 แสดงตำแหน่งขององค์ประกอบในเครื่อง Spectrofluorometer.

(ที่มา: [http://www.il.mahidol.ac.th/e-media/color-light/page4\\_5.html](http://www.il.mahidol.ac.th/e-media/color-light/page4_5.html))

## 2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.5.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับกาบา

พรบุรี แทนประมูล [4] ได้ทำการพัฒนาวิธีในการตรวจวัดหาปริมาณกาบา จากผลิตภัณฑ์อาหารเสริมชนิดเม็ดและชนิดแคปซูล โดยอาศัยการทำอนุพันธ์ด้วย 2-hydroxy-1-naphthaldehyde ด้วยระบบ SI และอาศัยความร้อนในการเร่งปฏิกิริยา จากนั้นตรวจวัดผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นด้วยยูวีสเปกโตรมิเตอร์ พบว่าช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วง 100-2,000 มิลลิกรัมต่อลิตร, ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 0.17 และขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด เท่ากับ 104 มิลลิกรัมต่อลิตร

H.L.Rowley และคณะ [3] ได้ตรวจวัดหาปริมาณกรดอะมิโนชนิดต่างๆ โดยใช้เทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟีแยกโดยอาศัยเฟสเคลื่อนที่ที่มีอัตราส่วนคงที่ (Isocratic elution) ร่วมกับการตรวจวัดทางไฟฟ้า ซึ่งทำโดยนำตัวอย่างมาทำอนุพันธ์กับ *o*-phthalaldehyde โดยผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจะมีความเสถียรอย่างน้อย 5 ชั่วโมง ซึ่งจะแยกออกมาได้เป็นลำดับดังนี้ คือ serine, glycine, taurine, glutamate, arginine, alanine และ GABA ตามลำดับ ใช้เวลาในการชะสารออกจากคอลัมน์ไปยังเครื่องตรวจวัดเป็นเวลาทั้งหมด 25 นาที

A. Hayat และคณะ [14] ได้ตรวจวัดหาปริมาณกาบาและไลซีนในพันธุ์ข้าวปากีสถาน โดยใช้เทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟี โดยพันธุ์ข้าวที่นำมาทำการตรวจวัดจะต้องมีการทำอนุพันธ์กับ 2-hydroxynaphthaldehyde จากนั้นทำการแยกโดยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟี จะใช้ท่อคาร์บอน-18 ในระบบ Reverse phase เป็นส่วนอยู่กับที่ และใช้ระบบ gradient elution ของเมทานอลและน้ำเป็นส่วนเคลื่อนที่ โดยมีอัตราการไหลอยู่ที่ 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที เมื่อแยกเสร็จจะตรวจวัดด้วยยูวีสเปกโตรมิเตอร์ พบว่าช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 3.83-34.58 และ 5.16-48.68 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ของกาบาและไลซีนตามลำดับ ค่า R ของสารมาตรฐานทั้งสอง เท่ากับ 0.998 และพันธุ์ข้าวที่มีปริมาณกาบาและไลซีนสูงที่สุดคือ ข้าวกล้อง ซึ่งมีปริมาณกาบาและไลซีนเท่ากับ 4.1-6.58 และ 15.1-27.6 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ

R. Horanni และคณะ [15] ได้ตรวจวัดกรดอะมิโน 19 ชนิดในชาชนิดต่างๆ โดยอาศัยการทำอนุพันธ์กับ 9-fluorenylmethoxycarbonyl chloride (Fmoc-Cl) แล้วทำการตรวจวัดโดยใช้เทคนิค HPLC-UV ที่ใช้ท่อคาร์บอน 18 ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นส่วนที่คงที่และในส่วนที่เคลื่อนที่ จะอาศัยการทำ gradient ของ 0.1M sodium acetate buffer pH (5.8) ที่ประกอบไปด้วย 0.05% (v/v) triethylamine และ 80% acetonitrile-water เมื่อเกิดการแยกจะทำการตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 262 นาโนเมตร ผลการวิเคราะห์พบว่าได้ค่า  $R^2 \geq 0.999$  ค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ (recovery) >91% ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) อยู่ในช่วง 0.057-0.534 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ (LOQ) อยู่ในช่วง 0.235-1.849 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร กรดอะมิโนที่ทำการตรวจวัดได้ค่าสูงที่สุดคือกาบาและแอสพาราจีน ที่อยู่ในชาขาว ซึ่งมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 25 มิลลิกรัมต่อกรัม

## 2.5.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับอนุภาคนาโน

H. Ping และคณะ [9] ได้พัฒนาวิธีตรวจวัดเมลามีนจากน้ำนมดิบ เริ่มจากการกำจัดไขมันและโปรตีนโดยการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง ก่อนการรวมตัวกับอนุภาคนาโนซิลเวอร์แล้วสีของสารละลายจะเปลี่ยนไปจากเดิมจากสีเหลืองเป็นสีแดงแสดงว่าอนุภาคมีขนาดใหญ่ขึ้น และจะติดตามการเปลี่ยนแปลงสีด้วยยูวีสเปกโตรมิเตอร์ ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) คือ 2.32 ไมโครโมลาร์ และช่วงความเป็นเส้นตรงเท่ากับ 4.0-170.0 ไมโครโมลาร์

J.-chun Qu และคณะ [10] ได้ทำการตรวจวัดโพพาฟิโนน โดยอาศัยการตรวจวัดทางสีด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ซึ่งทำโดยอาศัยการเกิดการรวมตัวกันของลิแกนด์ของโพพาฟิโนนกับอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่มีซิงเกิลล้อมรอบ เมื่อเกิดการรวมตัวกันจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีจากสีเหลืองไปเป็นสีแดงจนถึงสีม่วงซึ่งความเข้มข้นของโพพาฟิโนนที่สามารถตรวจวัดได้อยู่ในช่วง  $1.0 \times 10^{-5}$ – $3.5 \times 10^{-5}$  โมลาร์ ได้ค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.9986 และได้ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดคือ  $2.4 \times 10^{-6}$  โมลาร์ ซึ่งวิธีนี้ยังสามารถตรวจวัดสีได้ด้วยตาเปล่าโดยไม่ต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาแพงได้อีกด้วย

J. Ling และคณะ [16] ได้ทำการตรวจวัดเบอร์เบอร์รีน ไฮโดรคลอไรด์ โดยอาศัยการเปลี่ยนแปลงสีที่เกิดจากการรวมตัวกันของอนุภาคนาโนซิลเวอร์โดยมีเบอร์เบอร์รีนเป็นตัวเหนี่ยวนำ ในงานวิจัยนี้ได้ทำการสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่มีซิงเกิลเป็นสเตบิลิเซอร์จึงทำให้สภาพผิวของอนุภาคเป็นลบ ส่วนเบอร์เบอร์รีนจะมีสภาพเป็นบวกทำให้สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการรวมตัวกันของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ได้ เมื่อเกิดการรวมตัวกันจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีจากสีเหลืองไปเป็นสีเขียวถึงสีฟ้าซึ่งจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเบอร์เบอร์รีน จากนั้นจึงนำไปตรวจวัดการกระเจิงของแสงที่ความยาวคลื่น 396 นาโนเมตร พบว่าสามารถตรวจวัดได้ในช่วง 0.05-0.4 ไมโครโมลาร์ ซึ่งวิธีดังกล่าวสามารถทำได้ง่ายและใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อย จึงทำให้สามารถทำการวิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็ว

ในงานวิจัยนี้ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณกาบา ด้วยระบบซีเควนเชียลอินเจกชันโดยอาศัยการรวมตัวกันของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่มีซิงเกิลเป็นสเตบิลิเซอร์ ซึ่งทำให้สภาพผิวของอนุภาคนาโนซิลเวอร์เป็นลบ และกาบาที่มีสภาพเป็นบวกเมื่อควบคุมค่า pH ให้เท่ากับ 3.8 ซึ่งต่ำกว่าค่า pKa ของหมู่คาร์บอกซิลิก จึงเกิดการเหนี่ยวนำให้อนุภาคนาโนซิลเวอร์เกิดการรวมตัวกันขึ้น จากนั้นติดตามการเปลี่ยนแปลงด้วยการตรวจวัดการกระเจิงแสงด้วยเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ โดยค่าการกระเจิงแสงจะแปรผันตรงกับปริมาณกาบาที่เพิ่มขึ้น

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการทดลอง

#### 3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

##### 3.1.1 สารเคมี

ในการทำการวิจัยนี้ได้จัดเตรียมสารเคมี อุปกรณ์ และเครื่องมือต่างๆ เพื่อนำไปเตรียมสารละลาย ที่ใช้ในการทดลอง หรือใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ สำหรับตรวจวัดหาปริมาณความเข้มข้นของกบฏา โดยใช้ระบบซีควนเซียลอินเจกชัน และตรวจวัดด้วยเทคนิคสเปกโทรฟลูออโรเมทรี ดังนี้

ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	ความบริสุทธิ์ (%)	ยี่ห้อ และประเทศผู้ผลิต
แกมมา อะมิโนบิวทีริก แอซิด ( $\gamma$ -Aminobutyric acid)	$C_4H_9NO_2$	$\geq 99$	Sigma-Aldrich, China
โซเดียมโบโรไฮไดรด์ (Sodium borohydride)	$NaBH_4$	99	Sigma-Aldrich, Germany
กรดอะซิติก (Acetic acid)	$CH_3COOH$	99.5 - 105.0	Carlo Erba, UK
โซเดียมอะซิเตท (Sodium acetate anhydrous)	$CH_3COONa \cdot 3H_2O$	99.5	Rankem, India
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide)	$NaOH$	98	Rankem,, India
ซิลเวอร์ไนเตรท (Silver nitrate)	$AgNO_3$	99.88	Carlo Erba, UK
โซเดียมซิเตรท (Sodium citrate)	$C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$	99	Sigma-Aldrich, Japan

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องตรวจวัด

1. ขวดวัดปริมาตร
2. ปีกเกอร์
3. ปิเปต และ ไมโครปิเปต
4. หลอดหยด
5. กระจกบอทวง
6. ซ้อนตักสาร
7. ขวดทดลองแบบมีฝาปิด
8. อลูมิเนียมฟอยล์
9. แท่งแก้วคนสาร
10. นาฬิกาจับเวลา
11. เครื่องเขย่าสาร Vortex (Genie 2, USA)
12. เครื่องวัดพีเอช (Metrohm, 827 pH Lab Meter, USA)
13. เครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้าพร้อมแท่งกวนแม่เหล็กไฟฟ้า (Heidoph, MR 1000, Germany)
14. เครื่องยูวี – วิชเชิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Jasco V630, USA)
15. เครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ (Jasco FP-8000, USA)
16. อุปกรณ์สำหรับสร้างระบบซีควนเซียลอินเจกชัน ได้แก่
  - 16.1 8 – พอร์ตมัลติซีเลกชันวาวล์ (HAMILTON, Serial MVP, Switzerland)
  - 16.2 โมลดูลาวาล์วโพซิชั่นเนอร์ (HAMILTON, HVC ‘T’ 3-2, Switzerland)
  - 16.3 โพลทรูเชลล์สำหรับใช้กับเครื่องยูวี-วิชเชิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Hellma, 176.052-QS, USA)
  - 16.4 โพลทรูเชลล์สำหรับใช้กับเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ (Hellma, 176.052 QS, USA)
  - 16.5 PTFE tube ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 1.0 มิลลิเมตร (Vici AG International, JR-T68 07-M, Switzerland)

### 3.2 การเตรียมสารละลาย

สารเคมีที่ใช้ในการทดลองเป็นชนิดเกรดวิเคราะห์ (Analytical reagent grade ) และการเตรียมสารละลายทั้งหมดใช้น้ำกลั่นปราศจากไอออน (Deionization water)

#### 3.2.1 การเตรียมอนุภาคนาโนซิลเวอร์ [17]

1. เตรียมสารละลายซิลเวอร์ในเตรทความเข้มข้น 0.64 มิลลิโมลาร์ โดยชั่งซิลเวอร์ในเตรท 0.0108 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน และปรับปริมาตรจนครบ 100.00 มิลลิลิตร
2. เตรียมสารละลายโซเดียมซิเตรทความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ โดยชั่งโซเดียมซิเตรท 0.01 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน และปรับปริมาตรจนครบ 100.00 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. เตรียมสารละลายโซเดียมโบโรไฮไดรด์ ร้อยละ 0.1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ชั่งโซเดียมโบโรไฮไดรด์ 0.0250 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน และปรับปริมาตรจนครบ 25.00 มิลลิลิตร

การสังเคราะห์ทำได้โดย ปิเปตสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทเข้มข้น 0.64 มิลลิโมลาร์ (จากข้อ 1) ปริมาตร 39.00 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 600.00 มิลลิลิตร เติมสารละลายโซเดียมซิติเรทเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ (จากข้อที่ 2) ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร ปั่นกวนเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นหยุดสารละลายโซเดียมโบโรไฮไดรด์เข้มข้น ร้อยละ 0.1 น้ำหนักต่อปริมาตร (จากข้อที่ 3) โดยระหว่างหยุดสารละลายยังคงปั่นกวนอยู่ สารละลายจะเปลี่ยนจากสีดำเป็นสีเหลืองใส และปั่นกวนต่อเป็นเวลา 1 ชั่วโมง เก็บสารละลายในตู้เย็นอุณหภูมิ  $\pm 4$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ก่อนนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

### 3.2.2 การเตรียมสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ (ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ พีเอช 3.80)

1. เตรียมสารละลายโซเดียมอะซิเตทความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ โดยชั่งโซเดียมอะซิเตทไตรไฮเดรตมา 3.4020 กรัม ละลายด้วยน้ำและปรับปริมาตรจนครบ 250.00 มิลลิลิตร

2. เตรียมสารละลายกรดแอสติคความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ โดยปิเปตกรดแอสติค 14.93 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรจนครบ 500.00 มิลลิลิตร

3. จากนั้นนำสารละลายกรดอะซิติกความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ปริมาตร 450.60 มิลลิลิตร (จากข้อ 1) มาผสมกับสารละลายสารละลายโซเดียมอะซิเตทความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ปริมาตร 49.40 มิลลิลิตร (จากข้อ 2) และปรับพีเอชให้เท่ากับ 3.80 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์

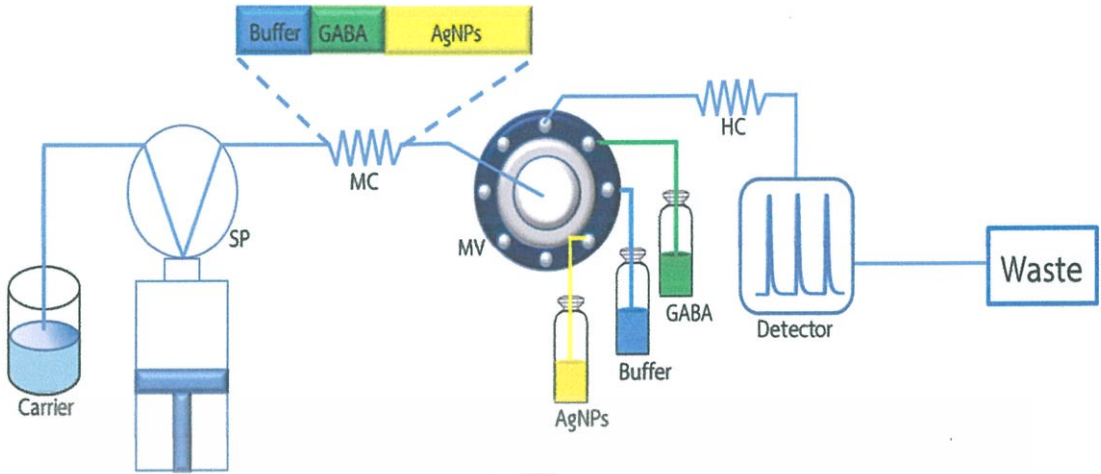
### 3.2.3 การเตรียมสารละลายสต็อกมาตรฐานกาบา

เตรียมสารละลายสต็อกมาตรฐานกาบา 500 มิลลิกรัมต่อลิตร (Stock solution) โดยชั่งกาบา 0.0500 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วยสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์พีเอช 3.80 เป็น 100.00 มิลลิลิตร และเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ก่อนตรวจวัด สารละลายสต็อกมาตรฐานกาบาที่เตรียมขึ้นนี้จะนำไปใช้สำหรับเตรียมสารละลายมาตรฐานกาบาความเข้มข้นต่างๆต่อไป

## 3.3 วิธีดำเนินการทดลอง

### 3.3.1 การออกแบบระบบซีเควนเซียลอินเจกชัน

ระบบซีเควนเซียลอินเจกชันในการวิเคราะห์หาปริมาณกาบาแบบอัตโนมัติ แสดงดังรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 แสดงระบบระบบซีควนเซียลอินเจคชันอะนาลิซิสที่ได้ออกแบบ เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณกาบาแบบอัตโนมัติ; Carrier: น้ำกลั่นปราศจากไอออน SP: โซริงค์ปั๊ม, HC: ท่อไฮลด์คิงคอยล์, MV: มัลติซีเลกชันวาล์ว, AgNPs: สารละลายอนุภาคนาโนซิลเวอร์, Buffer: แอซิเตทบัฟเฟอร์, GABA: สารละลายมาตรฐานกาบา, MC: ท่อมิกซิงคคอยล์, Detector: เครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์

### 3.3.2 ลำดับขั้นตอนการวิเคราะห์หาปริมาณกาบา โดยอาศัยระบบซีควนเซียลอินเจคชัน

1. ดูดสารละลายตัวพา (น้ำกลั่นปราศจากไอออน) ปริมาตร 2200 ไมโครลิตรเข้าสู่โซริงค์ปั๊มด้วยอัตราเร็ว 100 ไมโครลิตรต่อวินาที
2. ดูดสารละลายแอซิเตทบัฟเฟอร์พีเอช 3.80 ปริมาตร 90 ไมโครลิตร ด้วยอัตราเร็ว 20 ไมโครลิตรต่อวินาที เข้าสู่ระบบโดยเก็บไว้ที่ท่อไฮลด์คิงคอยล์  
หมายเหตุ ใช้แอซิเตทบัฟเฟอร์เป็นตัวปรับปริมาตร เพื่อให้ความเข้มข้นของสารละลายกาบาตามต้องการ
3. ดูดสารละลายสตีคอมมาตรฐานกาบาความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ด้วยอัตราเร็ว 20 ไมโครลิตรต่อวินาที เข้าสู่ระบบโดยเก็บไว้ที่ท่อไฮลด์คิงคอยล์  
หมายเหตุ ในกรณีนี้จะได้ความเข้มข้นของสารละลายในปริมาตรรวม 100 ไมโครลิตร เป็น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร
4. ดูดรีเอเจนต์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ด้วยอัตราเร็ว 20 ไมโครลิตรต่อวินาที เข้าสู่ระบบโดยเก็บไว้ที่ท่อไฮลด์คิงคอยล์
5. ผลักสารละลายเข้าสู่ระบบตรวจวัด ด้วยอัตราเร็ว 20 ไมโครลิตรต่อวินาที เพื่อวัดค่าการกระเจิงแสง ด้วยเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์
6. ทำซ้ำข้อ 1-5 โดยเปลี่ยนปริมาตรบัฟเฟอร์เป็น 80, 70 และ 60 ไมโครลิตร และเปลี่ยนปริมาตรสารละลายสตีคอมมาตรฐานกาบาเป็น 20, 30 และ 40 ไมโครลิตรสำหรับสารละลายกาบาความเข้มข้น 100, 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 แสดงปริมาณของสารละลายสารแอซิเตทบัฟเฟอร์พีเอช 3.80, สารละลาย สติ๊กมาตรฐานกาบาความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และอนุภาคนาโนซิลเวอร์ เพื่อสร้างกราฟ มาตรฐาน

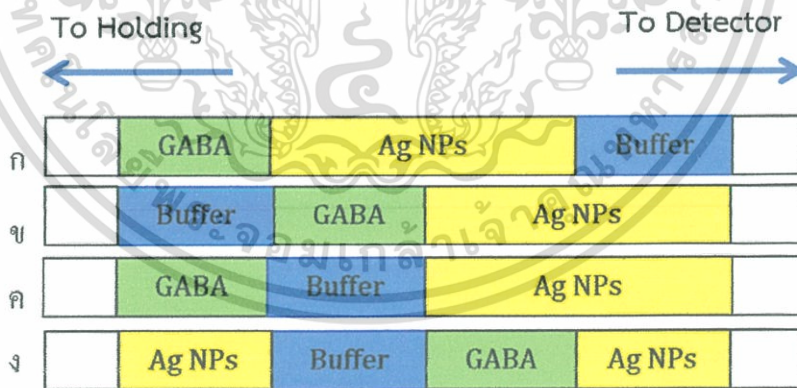
ความเข้มข้น ของสารละลาย (ppm)	ปริมาตร สารละลายอะซิเตท บัฟเฟอร์พีเอช 3.80 ( $\mu\text{L}$ )	ปริมาตรมาตรฐาน สารละลาย มาตรฐานกาบา ppm ( $\mu\text{L}$ )	ปริมาตรมาตรฐานรีเอ เจนต์อนุภาคนาโน ซิลเวอร์ ( $\mu\text{L}$ )	ปริมาตร รวม ( $\mu\text{L}$ )
0	100.00	0.00	100.00	200.00
50	90.00	10.00	100.00	200.00
100	80.00	20.00	100.00	200.00
150	70.00	30.00	100.00	200.00
200	60.00	40.00	100.00	200.00

### 3.3.3 การศึกษาอัตราส่วนปริมาตรสารละลายต่างๆที่ดูเข้าในระบบ SI เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์

ทำการศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์กาบา ทั้งปัจจัยทางกายภาพและ ทางเคมี ที่สามารถส่งผลต่อการกระเจิงแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น

#### 3.3.3.1 ศึกษาอิทธิพลของลำดับในการทำปฏิกิริยา

ทำการศึกษาอิทธิพลเนื่องจากลำดับในการทำปฏิกิริยาที่ส่งผลต่อความไวในการ วิเคราะห์ โดยใช้ความยาวของท่อผสม 150 เซนติเมตร ที่ความเข้มข้น 200, 400, 600, 800 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยลำดับในการทำปฏิกิริยาที่ศึกษา ดังแสดงในรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 แสดงลำดับท่อ혼ไซนที่ดูเข้ามาในโฮลดิ้งคอยล์ โดยภาพ ก, ข, และ ค เป็นลำดับการทำ ปฏิกิริยาแบบ non-sandwich และภาพ ง เป็นลำดับในการทำปฏิกิริยาแบบ sandwich กำหนดให้ GABA คือ สารละลายสติ๊กมาตรฐานกาบาความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร Ag NPs คือ รีเอเจนต์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ Buffer คือ แอซิเตทบัฟเฟอร์พีเอช 3.80 โดยใน รูปเป็นอัตราส่วนโดยปริมาตร (แอซิเตทบัฟเฟอร์กับสติ๊กของกาบาต่ออนุภาค นาโนซิลเวอร์) เป็น 1:1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.3.3.2 ศึกษาอิทธิพลของความยาวมิกซิงค์คอยล์

ทำการศึกษาอิทธิพลเนื่องจากความยาวมิกซิงค์คอยล์ ที่ส่งผลต่อระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาและความไวในการวิเคราะห์ โดยใช้สารละลายมาตรฐานกาบาปริมาตร 100 ไมโครลิตร (ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ถึง 200 มิลลิกรัมต่อลิตร) และรีเอเจนต์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และศึกษาความยาวของท่อผสมที่เลือกคือ ไม่มีท่อผสม, 50, 100 และ 150 เซนติเมตร

### 3.3.3.3 ศึกษาอิทธิพลของอัตราการไหล

ทำการศึกษาอิทธิพลเนื่องจากอัตราการไหลที่ส่งผลต่อการเกิดปฏิกิริยา และความไวในการวิเคราะห์ โดยอัตราการไหลที่เลือกศึกษาคือ อัตราในการดูด/ผลัก (10/10, 15/15, 20/20 และ 10/15 ไมโครลิตรต่อวินาที)

### 3.3.3.4 ศึกษาอิทธิพลของระยะเวลาในการบ่มสารละลายมาตรฐานกาบาก่อนทำการวิเคราะห์ (incubation time)

ทำการศึกษาอิทธิพลของระยะเวลาในการเก็บสารละลายต่อมาตรฐานกาบา (incubation time) ที่ส่งผลต่อการเกิดปฏิกิริยาในการวิเคราะห์ โดยเวลาที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ 2, 6, 10, 12 และ 24 ชั่วโมง

### 3.3.3.5 ศึกษาอิทธิพลเนื่องจากความเข้มข้นของแอซิเตทบัฟเฟอร์พีเอช 3.80 ที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยา

ศึกษาอิทธิพลความเข้มข้นของแอซิเตทบัฟเฟอร์พีเอช 3.80 ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาที่ส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์โดยความเข้มข้นที่ศึกษา คือ 0.01, 0.05, 0.1 และ 0.5 โมลาร์

### 3.3.3.6 ศึกษาอิทธิพลเนื่องจากความเข้มข้นของรีเอเจนต์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยา

การศึกษาอิทธิพลความเข้มข้นของรีเอเจนต์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา ที่ส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์ โดยความเข้มข้นที่ศึกษา ได้แก่ 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, และ 0.5 มิลลิโมลาร์

### 3.3.3.7 ศึกษาอิทธิพลของปริมาตรอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยา

ทำการศึกษาอิทธิพลของปริมาตรรีเอเจนต์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา ที่ส่งผลต่อการวิเคราะห์ โดยปริมาตรของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ศึกษา ได้แก่ 25, 50, 100 และ 200 ไมโครลิตร

### 3.3.3.8 ศึกษาความยาวคลื่นแสงที่ใช้กระตุ้น

ทำการศึกษาความยาวคลื่นแสงที่เหมาะสมที่ใช้ในการกระตุ้นที่ความยาวคลื่น 225, 250, 275, 300, 325 และ 350 นาโนเมตร

## 3.3.4 การสร้างกราฟมาตรฐานที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสม

เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกาบาแบบอัตโนมัติ โดยใช้ระบบ SI แล้ว จึงได้ทำการสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณกาบา โดยพลอต กราฟระหว่างแกน  $x$  เป็นค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกาบาที่ได้กำหนดไว้และ แกน  $y$  ซึ่งเป็นสัญญาณที่ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการวิเคราะห์ที่หาค่าของแปลงออกแล้ว ซึ่งจะได้กราฟมาตรฐานตามที่ต้องการ และคำนวณอัตราการใช้วิเคราะห์ตัวอย่างต่อชั่วโมง

### 3.3.5 ประเมินคุณลักษณะเด่นของวิธีวิเคราะห์

#### 3.3.5.1 ความเที่ยง (precision) ของวิธีวิเคราะห์

ในการหาความเที่ยงของวิธี จะพิจารณาจากค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ โดยการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานกานา ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นจำนวน 5 ครั้ง จากนั้นหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ตามสูตรดังนี้

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

เมื่อ SD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน  
 $\bar{X}$  คือ ค่าเฉลี่ย

#### 3.3.5.2 ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (Limit of detection, LOD)

ในส่วนนี้เป็นการหาขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดของวิธี ซึ่งคำนวณได้ตามสูตรดังนี้

$$\text{LOD} = 3\text{SD of signal/slope}$$

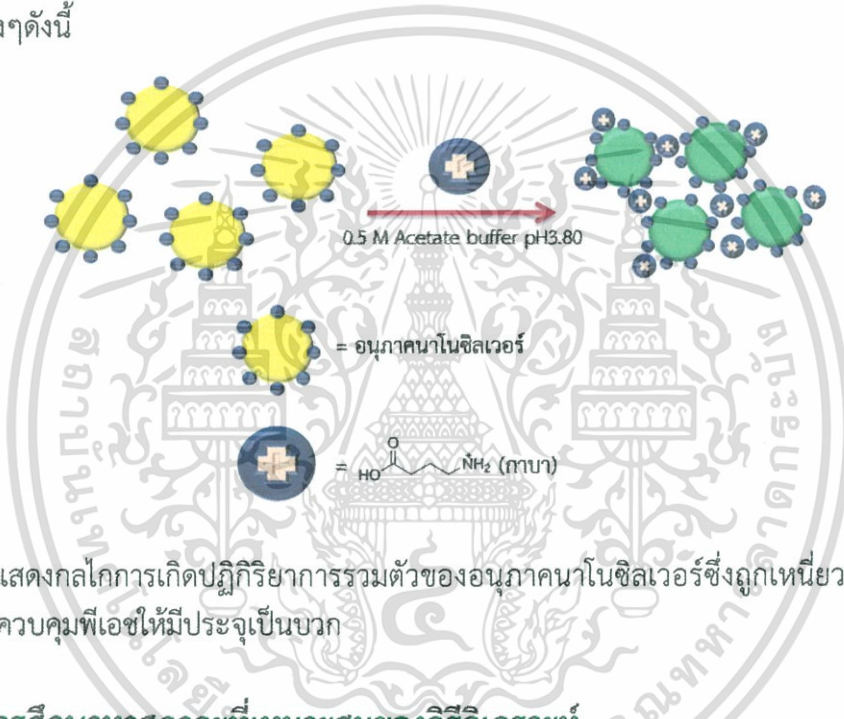
เมื่อ SD of blank คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณ  
 Slope คือ ค่าความชันที่ได้จากกราฟมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 4

### ผลการวิจัยและอภิปรายผล

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาระบบซีควนเซียลอินเจกชันในการทำปฏิกิริยาระหว่างอนุภาคนาโนซิลเวอร์กับกาบาแบบอัตโนมัติเพื่อหาปริมาณกาบา อาศัยหลักการการรวมตัวของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยกาบาซึ่งถูกควบคุมให้มีสภาพประจุเป็นบวก แล้วจึงทำการตรวจวัดปริมาณด้วยการกระเจิงแสงด้วยเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ โดยเมื่อกาบามีปริมาณมากขึ้น จะเกิดการเหนี่ยวนำอนุภาคนาโนซิลเวอร์ให้เกิดการรวมตัวกันมากขึ้น กลไกการเกิดปฏิกิริยาแสดงดังรูปที่ 4.1 ดังนั้นค่าการกระเจิงแสงที่ได้จะแปรผันตรงกับปริมาณกาบา จากหลักการข้างต้นจึงได้ทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของวิธีวิเคราะห์ ดังแสดงผลการทดลอง และอภิปรายผลการทดลองต่างๆดังนี้

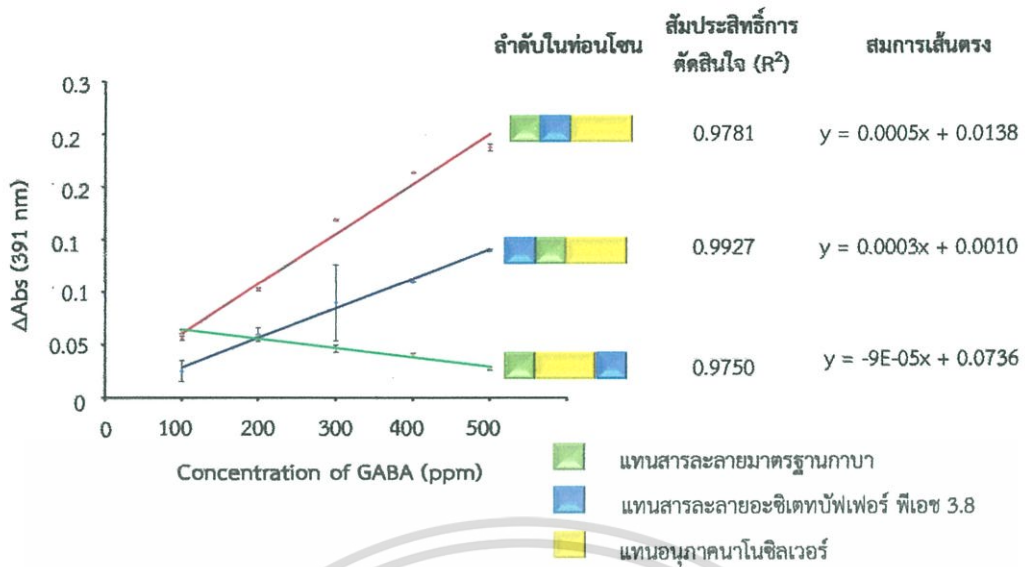


รูปที่ 4.1 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาการรวมตัวของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ซึ่งถูกเหนี่ยวนำด้วยกาบาที่ควบคุมพีเอชให้มีประจุเป็นบวก

#### 4.1 ผลการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของวิธีวิเคราะห์

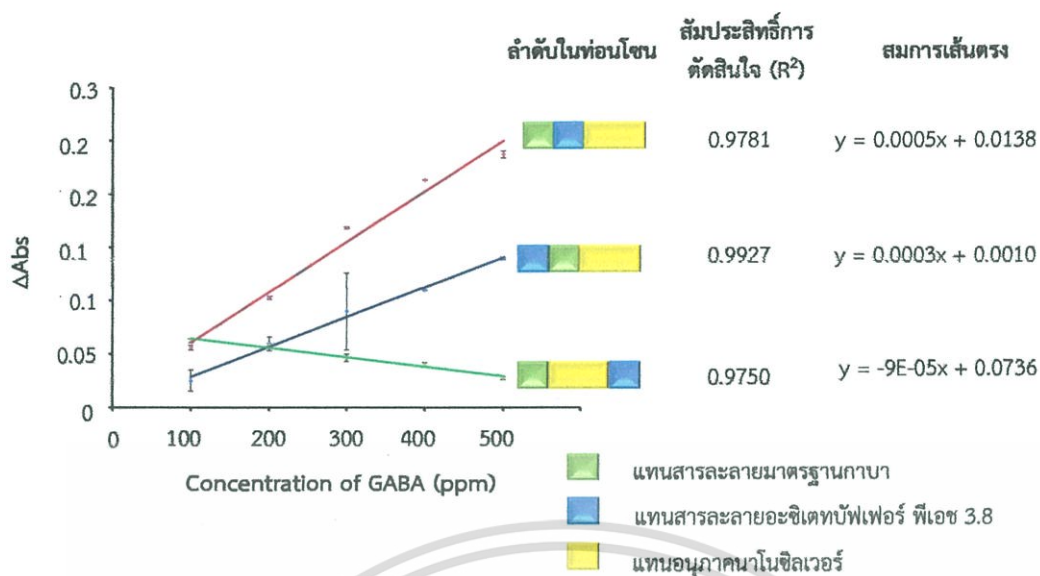
##### 4.1.1 ผลการศึกษาอิทธิพลของลำดับในการทำปฏิกิริยา

ทำการศึกษาอิทธิพลของลำดับในการทำปฏิกิริยาที่ส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์ โดยทำการสลับลำดับของสารละลายในระบบเพื่อเลือกลำดับที่ให้ความไว (sensitivity) สูงที่สุด โดยในการทดลองนี้จะใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ในการตรวจวัด ได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.2



รูปที่ 4.2 แสดงผลของลำดับในท่อนโชนโพลีคอลลอยด์ที่ส่งผลต่อค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ ( $\Delta Abs$  : ผลต่างของค่าการดูดกลืนแสงระหว่างแบลงค์กับสารละลายมาตรฐาน ความเข้มข้นต่างๆ)

จากผลการทดลองพบว่าเมื่อใช้ลำดับการทำปฏิกิริยาแบบ (Buffer/Std.GABA/AgNPs) และแบบ (Std.GABA/ Buffer/ AgNPs) จะให้ความไวในการวิเคราะห์สูงกว่าแบบอื่นโดยพิจารณาจากความชัน เนื่องจากลำดับทั้งสองแบบค่าความชันใกล้เคียงกัน แต่เมื่อพิจารณาที่ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสิ้นใจพบว่าลำดับแบบ (Std.GABA/ Buffer/ AgNPs) ให้ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสิ้นใจที่ดีกว่า คือ 0.9927 จึงเลือกลำดับนี้ มาทำการศึกษาลำดับการทำปฏิกิริยาแบบ sandwich และ non-sandwich ต่อไปโดยอาศัยเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ ในการติดตามค่าการกระเจิงแสง

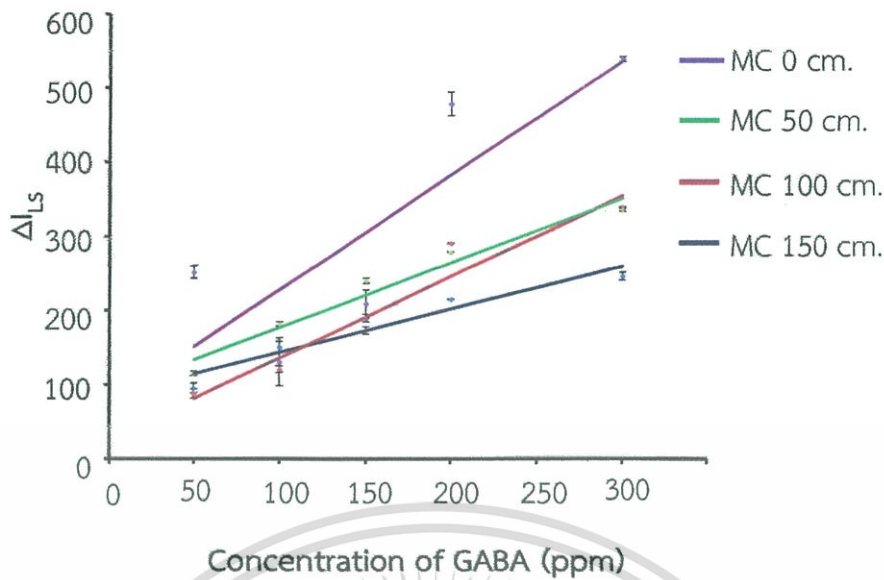


**รูปที่ 4.3** แสดงผลของลําดับการทำปฏิกิริยาแบบ sandwich และ non-sandwich ในท่อนโชน โยลดีงคอยล์ที่ส่งผลต่อค่าการกระเจิงแสงของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ ( $\Delta I_S$ : ผลต่างของค่าการกระเจิงแสงระหว่างแบลนด์กับสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นต่างๆ)

จากรูปที่ 4.3 จะเห็นได้ชัดเจนว่าการทำปฏิกิริยาแบบ non-sandwich ให้ความไวในการวิเคราะห์และค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจที่ดีกว่าการทำปฏิกิริยาแบบ sandwich เนื่องจากการทำปฏิกิริยาแบบ sandwich คือการนำอนุภาคนาโนซิลเวอร์ประกบระหว่างท่อนโชนของสารละลายมาตรฐานกาบากับสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ ทำให้อนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ติดกับสารละลายบัฟเฟอร์เข้าทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานกาบาได้ยากขึ้น จึงเกิดปฏิกิริยาได้ไม่ดี ความไวในการวิเคราะห์จึงต่ำกว่าแบบ non-sandwich ดังนั้นจึงเลือกลําดับการทำปฏิกิริยาแบบ non-sandwich (Std.GABA/ Buffer/ AgNPs) มาทำการศึกษาปัจจัยอื่นๆต่อไป

#### 4.1.2 ผลการศึกษาอิทธิพลความยาวของมิกซิงคอยล์

ทำการศึกษาอิทธิพลของความยาวมิกซิงคอยล์ภายในระบบ ที่ส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์ปริมาณกาบา โดยศึกษาความยาวของมิกซิงคอยล์ที่ 0, 50, 100, และ 150 เซนติเมตร แสดงผลดังรูปที่ 4.4 และตารางที่ 4.1



รูปที่ 4.4 แสดงผลของความยาวของมิกซิงค้อยล์ที่ 0, 50, 100, และ 150 เซนติเมตร ซึ่งส่งผลต่อค่าการกระเจิงของแสงของอนุภาคนาโนซิลเวอร์เมื่อมีกาบาคความเข้มข้นต่างๆกันตามลำดับ (MC : มิกซิงค้อยล์)

ตารางที่ 4.1 สรุปสมการเชิงเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเมื่อใช้ความยาวของมิกซิงค้อยล์ในระบบ SI สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกาบาค

ความยาวของมิกซิงค้อยล์ (เซนติเมตร)	สมการเส้นตรง	ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ ( $R^2$ )	อัตราการวิเคราะห์ (ตัวอย่าง/ชั่วโมง)
0	$y = 1.5447x + 75.243$	$R^2 = 0.698$	13
50	$y = 0.8734x + 90.959$	$R^2 = 0.959$	14
100	$y = 1.0973x + 27.432$	$R^2 = 0.939$	13
150	$y = 0.5827x + 86.568$	$R^2 = 0.923$	13

จากการศึกษาพบว่าเมื่อความยาวของมิกซิงค้อยล์เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารละลายมาตรฐานกาบาคกับอนุภาคนาโนซิลเวอร์มากขึ้น เมื่อพิจารณาค่าความไวและค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ พบว่า ที่ความยาว 50 และ 100 เซนติเมตร มีค่าที่ดีที่สุด และใกล้เคียงกัน แต่การใช้มิกซิงค้อยล์ที่ความยาว 50 เซนติเมตร จะทำให้ระยะเวลาในการวิเคราะห์น้อยกว่าการใช้มิกซิงค้อยล์ที่ความยาว 100 เซนติเมตร ดังนั้นในงานวิจัยจึงเลือกความยาวมิกซิงค้อยล์ที่ 50 เซนติเมตร

#### 4.1.3 ผลการศึกษาอิทธิพลของอัตราการไหล

ทำการศึกษาอัตราการไหลของสารละลายภายในท่อขณะดูดสารละลายเข้าสู่โวลต์ดิงคอลลี และผลึกสารเข้าสู่ระบบการตรวจวัด โดยอัตราการไหลที่ทำการศึกษาคณะดูดและผลึกสารละลายเข้าสู่ระบบได้แก่ 10:10, 15:15, 20:20 และ 10:15 ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

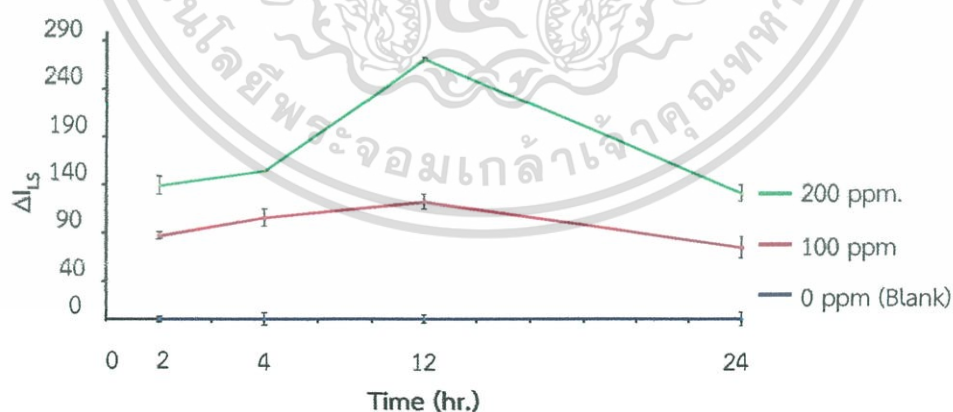
**ตารางที่ 4.2** สรุปสมการเชิงเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเมื่อใช้อัตราการไหลที่แตกต่างกัน

อัตราการไหล (จุดต่อผลึก, ไมโครลิตรต่อ วินาที)	สมการเส้นตรง	ค่าสัมประสิทธิ์การ ตัดสินใจ ( $R^2$ )	อัตราการวิเคราะห์ (ตัวอย่าง/ชั่วโมง)
10 ต่อ 10	$y = 0.4143x + 14$	$R^2 = 0.9991$	8
10 ต่อ 15	$y = 0.46x + 30$	$R^2 = 0.8758$	11
15 ต่อ 15	$y = 0.2957x + 2$	$R^2 = 0.9643$	11
20 ต่อ 20	$y = 0.3971x + 28$	$R^2 = 0.9725$	14

จากผลการทดลองพบว่า ถึงแม้อัตราการไหล (จุด:ผลึก) ที่ 10:10 ไมโครลิตรต่อวินาที จะให้ความไวและค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจที่ดี แต่ที่อัตราการไหลนี้จะทำให้อัตราการวิเคราะห์ตัวอย่างต่อชั่วโมงต่ำที่สุด คือ 8 ตัวอย่างต่อชั่วโมง ดังนั้นเพื่อให้การวิเคราะห์ทำได้รวดเร็ว จึงเลือกใช้อัตราการไหลที่ 20:20 ไมโครลิตรต่อวินาที ซึ่งอัตราการไหลนี้ยังให้ความไวและค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจที่ใช้ได้ สามารถวิเคราะห์ได้ถึง 14 ตัวอย่างต่อชั่วโมงดีที่ จึงเลือกอัตราการไหลที่ 20:20 ไมโครลิตรต่อวินาทีมาศึกษาหัวข้ออื่นๆถัดไป

#### 4.1.4 ผลการศึกษาอิทธิพลของระยะเวลาในการบ่มสารละลายกาบา

เนื่องจากกาบาเป็นกรดอะมิโนชนิดหนึ่งซึ่งประกอบด้วยหมู่คาร์บอกซิลิก และหมู่อะมิโน ดังนั้นกาบาจึงมี  $pK_a$  2ค่า คือ 4.23 และ 10.43 ตามลำดับ ในงานวิจัยนี้ ต้องการให้กาบาอยู่ในสถานะที่มีประจุเป็นบวก จึงจำเป็นต้องควบคุม พีเอชของสารละลายให้มีค่าต่ำกว่า  $pK_{a1}$  โดยเลือกใช้สารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ พีเอช 3.8 ในการทำการทดลอง โดยทำการเตรียมสารละลายกาบา และปรับปริมาตรด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ดังกล่าว จากนั้นตั้งทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 2, 6, 12, และ 24 ชั่วโมงก่อนนำมาใช้ในการทดลองด้วยระบบ SI แสดงผลดัง รูปที่ 4.5

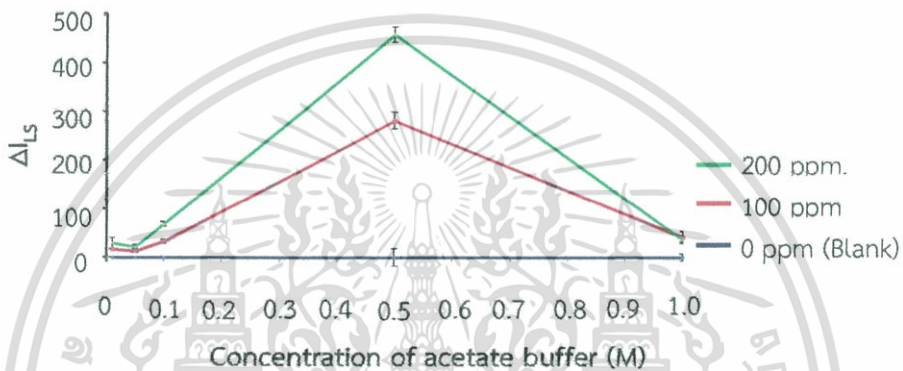


**รูปที่ 4.5** แสดงค่าการกระเจิงแสงของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารละลายมาตรฐานกาบาที่เตรียมในสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ พีเอช 3.8 ทิ้งไว้ที่เวลา 2, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง

จากรูปผลการทดลองที่ 4.4 จะพบว่าช่วงเวลาที่บ่มสารกาบา ตั้งแต่ 9 ถึง 13 ชั่วโมงผลต่างของสัญญาณระหว่างสารละลายมาตรฐานกาบาความเข้มข้น 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเทียบกับสัญญาณของแบลนค์ จะให้ความต่างของสัญญาณมากที่สุด จึงทำการบ่มสารละลายมาตรฐานกาบาเป็นเวลาประมาณ 12 ชั่วโมง ก่อนนำมาทำการวิเคราะห์โดยระบบ SI

#### 4.1.5 ผลการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์

ทำการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ พีเอช 3.8 ต่อการเกิดปฏิกิริยา ที่ความเข้มข้น 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 และ 1 โมลาร์ ในการเตรียมสารละลายมาตรฐานกาบา และปรับปริมาตรสารในระบบ SI ได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4.6

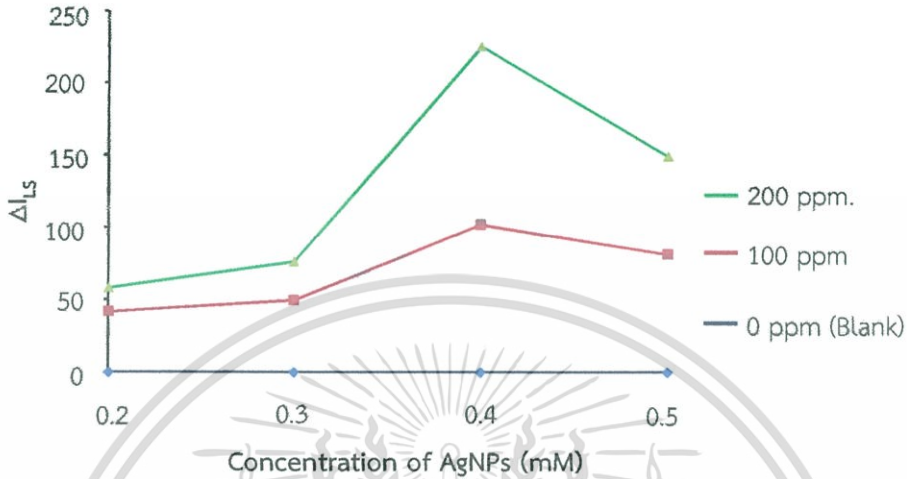


รูปที่ 4.6 แสดงค่าการกระเจิงแสงของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารละลายมาตรฐานกาบาในสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ pH 3.8 ที่ความเข้มข้น 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 และ 1 โมลาร์

ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเกิดการรวมตัวกันของอนุภาคนาโนซิลเวอร์มีหลายอย่าง หนึ่งในนั้นคือค่าความแรงของประจุ (ionic strength) จากงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่า การกระจายตัวของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ในตัวกลางที่มีค่าความแรงของประจุสูง จะทำให้เกิดการรวมตัวกันเองของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ (self-aggregation) [16] จากผลการทดลองพบว่าสารละลายบัฟเฟอร์ที่ความเข้มข้นต่ำ (0.01-0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร) กาบาไม่มีอิทธิพลมากพอที่จะเหนี่ยวนำให้เกิดการรวมตัวของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ได้ ในขณะที่สารละลายบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นค่าความแรงของประจุที่เหมาะสมทำให้อนุภาคนาโนซิลเวอร์พร้อมที่จะเกิดการรวมตัวกัน เมื่อเติมกาบาความเข้มข้นต่างๆไปทำให้เกิดการรวมตัวกันของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ซึ่งแปรตามความเข้มข้นของกาบา อย่างไรก็ตามสารละลายบัฟเฟอร์ที่ความเข้มข้นสูง (1 มิลลิกรัมต่อลิตร) อนุภาคนาโนซิลเวอร์สามารถเกิดการรวมตัวกันเองได้เนื่องมาจากค่าความแรงของประจุที่สูง จึงทำให้การรวมตัวกันของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ไม่ขึ้นกับความเข้มข้นของกาบา ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากให้ค่าการกระเจิงแสงที่แปรตามความเข้มข้นของกาบา

#### 4.1.6 ผลการศึกษาความเข้มข้นของอนุภาคนาโนซิลเวอร์

ทำการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ต่อการเกิดปฏิกิริยาที่ความเข้มข้น 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 มิลลิโมลาร์ ทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานกาบา ได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4.7

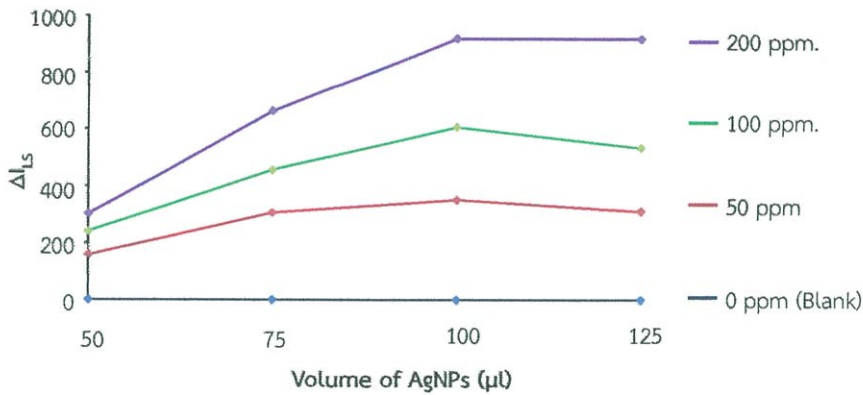


รูปที่ 4.7 แสดงค่าการกระเจิงแสงของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ความเข้มข้น 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 มิลลิโมลาร์ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารละลายมาตรฐานกาบาในสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ pH 3.8 ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์

จากผลการทดลองอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ความเข้มข้น 0.4 มิลลิโมลาร์ มีความแตกต่างของค่าการกระเจิงแสงมากที่สุด เนื่องจากที่ความเข้มข้น 0.2 และ 0.3 มิลลิโมลาร์ ปริมาณของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ในสารละลายน้อย จึงเกิดการรวมตัวกันได้น้อยทำให้ค่าการกระเจิงแสงต่ำ แต่ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์นั้น ปริมาณของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ในสารละลายมากจนทำให้เมื่อเกิดการรวมตัวกันขึ้น ขนาดอนุภาคมีขนาดใหญ่จนเกิดการบดบังแสงที่กระเจิงเข้าสู่เครื่องตรวจวัด ค่าการกระเจิงแสงจึงต่ำลง ดังนั้นจึงเลือกความเข้มข้นของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ 0.4 มิลลิโมลาร์

#### 4.1.7 ผลการศึกษาปริมาตรของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่เข้าทำปฏิกิริยา

ศึกษาปริมาตรของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ 50, 75, 100 และ 125 ไมโครลิตรเข้าทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานกาบา ได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4.8

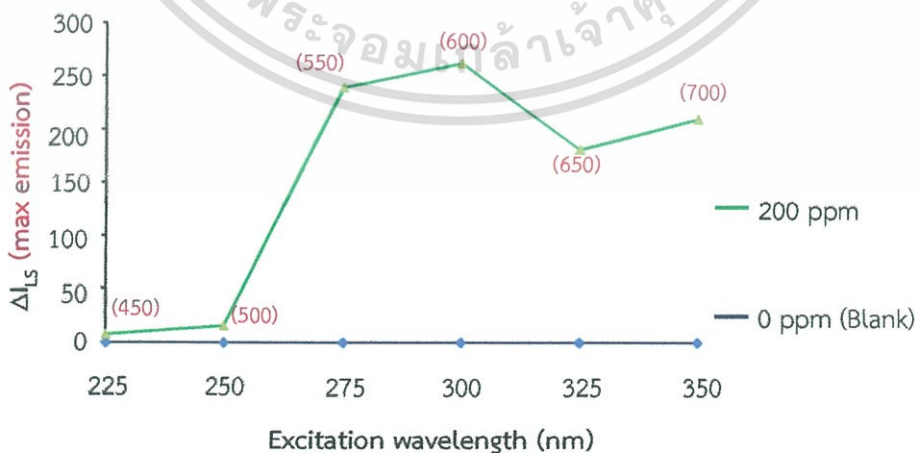


**รูปที่ 4.8** แสดงค่าการกระเจิงแสงของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ความเข้มข้น 0.4 มิลลิโมลาร์ที่ ปริมาตร 50, 75, 100 และ 125 ไมโครลิตร ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารละลายมาตรฐานกาบา ในสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ พีเอช 3.8 ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์

จากผลการทดลองเมื่อเพิ่มปริมาตรของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ตั้งแต่ 50 ถึง 100 ไมโครลิตร และที่ 125 ไมโครลิตรค่าการกระเจิงแสงเริ่มคงที่ เนื่องจากปริมาตรของอนุภาคนาโนซิลเวอร์เพิ่มขึ้น ทำให้เกิดการรวมตัวกันได้มากขึ้นเกิดการกระเจิงแสงมากขึ้น ดังนั้นจึงเลือก ปริมาตรของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ 100 ไมโครลิตรมาทำการศึกษาในหัวข้อต่อไป

#### 4.1.8 ผลการศึกษาความยาวคลื่นแสงที่ใช้กระตุ้น

ศึกษาความยาวคลื่นที่เหมาะสมที่ใช้ในการกระตุ้นและการตรวจวัดที่ให้ความแตกต่างของค่า การกระเจิงแสงมากที่สุด เมื่อมีความเข้มข้นของสารละลายแตกต่างกันโดย ทำการศึกษาความยาว คลื่นในการกระตุ้นที่ 225, 250, 275, 300, 325 และ 350 นาโนเมตร พบว่ามีความยาวคลื่นที่ใช้ใน การกระตุ้นดังกล่าว จะให้ค่าการกระเจิงแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 450, 500, 550, 600, 650 และ 700 นาโนเมตรตามลำดับ



**รูปที่ 4.9** แสดงค่าการกระเจิงแสงของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานกาบา โดยใช้แสงกระตุ้นที่ความยาวคลื่น 225, 250, 275, 300, 325 และ 350 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**หมายเหตุ** ค่าการกระเจิงแสงที่พล็อตในรูปที่ 4.8 เป็นค่าการกระเจิงแสงสูงสุดที่ได้จากแต่ละความยาวคลื่นที่ใช้กระตุ้น

จากผลการทดลองเมื่อใช้ความยาวคลื่น 300 นาโนเมตรเป็นแสงในการกระตุ้น พบว่าการกระเจิงแสงสูงสุด ให้ความยาวคลื่นดูดซับที่ 600 นาโนเมตร ค่าการกระเจิงแสงที่ความเข้มข้น 0 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าแตกต่างกันมากที่สุด ดังนั้นจึงเลือกความยาวคลื่นที่ 300 นาโนเมตรเป็นแสงในการกระตุ้น

จากผลการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการพัฒนาวิธีตรวจวัดปริมาณกาบาด้วยอนุภาคนาโนซิลเวอร์ภายใต้ระบบซีควนเซียลอินเจชันได้สภาวะที่เหมาะสมดังสรุปในตารางที่ 4.3

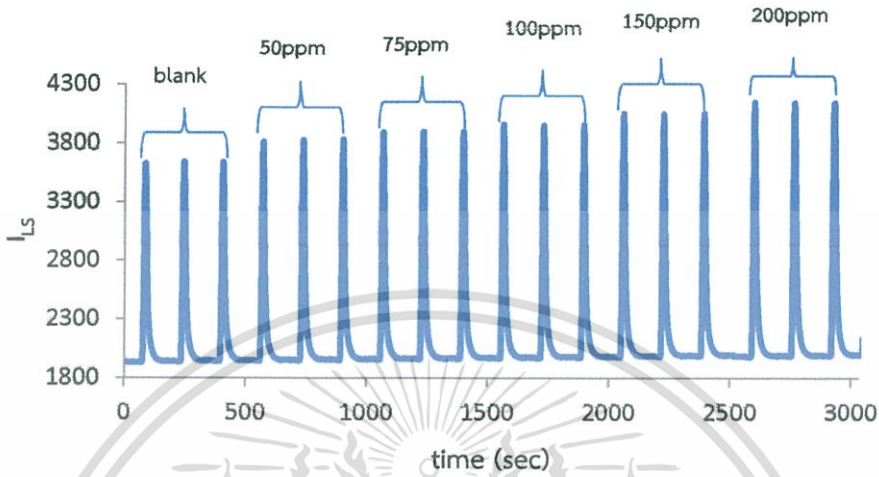
**ตารางที่ 4.3** สรุปการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณกาบาด้วยอนุภาคนาโนซิลเวอร์ภายใต้ระบบซีควนเซียลอินเจชัน

ปัจจัยที่ศึกษา	ค่าที่เลือก
ลำดับในการทำปฏิกิริยา	Buffer/ Std.GABA/ AgNPs
ความยาวของมิกซิงคอยล์	50 เซนติเมตร
อัตราการไหล	20-20 ไมโครลิตรต่อวินาที
ระยะเวลาในการบ่มสารละลายกาบา	12 ชั่วโมง
ความเข้มข้นของสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ พีเอช 3.8	0.5 โมลาร์
ความเข้มข้นของอนุภาคนาโนซิลเวอร์	0.4 มิลลิโมลาร์
ปริมาณของอนุภาคนาโนซิลเวอร์	100 ไมโครลิตร
ความยาวคลื่น	300 นาโนเมตร

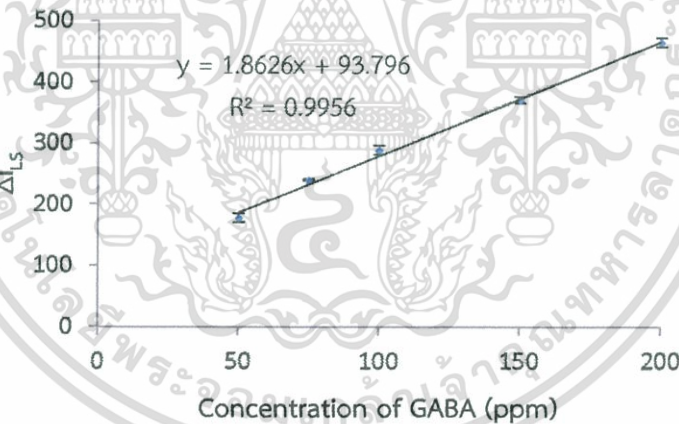
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 4.2 กราฟมาตรฐานที่ได้จากสถานะที่เหมาะสม

จากการศึกษาหาสถานะที่เหมาะสมสำหรับวิธีวิเคราะห์หาปริมาณกาบาด้วยอนุภาคนาโนซิลเวอร์ภายใต้ระบบซีควนเซียลอินเจคชัน ได้สร้างกราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ดังแสดงในรูปที่ 4.10 และรูปที่ 4.11



รูปที่ 4.10 แสดงสัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานกาบาความเข้มข้น 50-200 มิลลิกรัมต่อลิตร



รูปที่ 4.10 แสดงกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกาบา ในช่วงความเข้มข้น 50-200 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากการศึกษาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณกาบาด้วยอนุภาคนาโนซิลเวอร์ภายใต้ระบบเอสไอทีพัฒนาขึ้นสามารถวิเคราะห์ปริมาณกาบาได้ในช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ 50-200 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีสมการเส้นตรงตามความสัมพันธ์คือ  $\Delta I_{Ls} = 1.8626[\text{GABA}] + 93.796$  ( $y = 1.8626x + 93.796$ ) และมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ ( $R^2$ ) เท่ากับ 0.9956 และได้อัตราการวิเคราะห์เท่ากับ 25 ตัวอย่างต่อชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 4.3 ประเมินคุณลักษณะเด่นของวิธีวิเคราะห์

#### 4.3.1 ความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์

ความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์พิจารณาจากค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ทำการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานกาบา ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 5 ครั้ง (n=5) จากนั้นหาค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ พบว่าได้ค่าเท่ากับ 0.5966 จึงถือได้ว่าวิธีวิเคราะห์นี้มีความเที่ยงที่สูง

$$\text{เมื่อ } SD = \sqrt{\frac{\sum(X_i - \bar{X})^2}{N-1}}$$

$$\text{จาก } SD = \sqrt{\frac{\sum(X_i - \bar{X})^2}{N-1}}$$

$$= \sqrt{\frac{(2077-2060.8)^2 + (2070-2060.8)^2 + \dots + (2047-2060.8)^2}{5-1}}$$

$$= \sqrt{\frac{604.8}{4}} \quad \therefore SD = 12.2963$$

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

$$= \frac{12.2963}{2060.8} \times 100 \quad \therefore \%RSD = 0.5966$$

#### 4.3.2 ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด

ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (Limit of Detection, LOD) ในส่วนนี้เป็นการหาขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด ทำการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานกาบา ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 5 ครั้ง (n=5) ของวิธีซึ่งคำนวณได้ตามสูตรนี้

$$LOD = 3SD \text{ of signal/slope}$$

$$\text{เมื่อ } SD \text{ เท่ากับ } 12.2963 \text{ ดังนั้น } LOD = (3 \times 12.2963)/1.8626$$

$$LOD = 19.8052 \text{ มิลลิกรัมต่อลิตร}$$

ดังนั้นขีดจำกัดต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ จึงเท่ากับ 19.8052 มิลลิกรัมต่อลิตร

## บทที่ 5

### สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

#### 5.1 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

โครงการพิเศษนี้ได้พัฒนาระบบระบบ SI สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณกาบาด้วยอนุภาคนาโนซิลเวอร์ โดยระบบที่พัฒนาขึ้นนี้มีขีดจำกัดต่ำสุดที่ตรวจวัดได้คือ 19.80 มิลลิกรัมต่อลิตร ช่วงความเป็นเส้นตรงและช่วงใช้งาน เท่ากับ 50-200 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสิ้นใจเท่ากับ 0.9956 ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ร้อยละ 0.5966 และมีอัตราการวิเคราะห์ตัวอย่างต่อชั่วโมงสูงถึง 25 ตัวอย่างต่อชั่วโมง อีกทั้งยังมีความสะดวก รวดเร็ว มีความเป็นอัตโนมัติ และประหยัดเนื่องจากใช้สารในการวิเคราะห์แต่ละครั้งน้อยมากเป็นระดับไมโครลิตร ระบบที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถนำไปพัฒนาเพื่อใช้ในการตรวจวัดปริมาณกาบาในตัวอย่างอาหารเช่น ผลิตภัณฑ์อาหารเสริม ใบชา หรือในข้าว ต่อไป



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เอกสารอ้างอิง

1. นายอุดมชัย พลวิฑูรย์. 2553. “รายงานการฝึกปฏิบัติงานสัปดาห์ที่ 7.” ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.
2. GABA in tea. Tea Institute. Mae Fah Luang University.
3. Rowley, H.L. Martin, K.F. Marsden, C.A. 1994. “Determination of in Vivo Amino Acid Neurotransmitters by High-Performance Liquid Chromatography with *o*-phthalaldehyde Derivatization.” *Journal of Neuroscience methods*. 57 : 93-99
4. พรรวี แทนประมุข. 2557. “การพัฒนาระบบซีเควินเซียลอินเจคชันสำหรับการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์แบบอัตโนมัติและตรวจหาปริมาณกาบาด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรี.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
5. [http://en.wikipedia.org/wiki/Gamma-Aminobutyric\\_acid](http://en.wikipedia.org/wiki/Gamma-Aminobutyric_acid)
6. [http://archive.lib.cmu.ac.th/full/T/2552/aphys0852pp\\_ch2.pdf](http://archive.lib.cmu.ac.th/full/T/2552/aphys0852pp_ch2.pdf)
7. ศิริวรรณ ตั๊ก. 2556. “อนุภาคนาโนทอง: การสังเคราะห์และการประยุกต์สำหรับการวิเคราะห์ทางเคมี.” *J Sci Technol MSU*. 32 : 237-245
8. Duan, J. Yin, H. Wei, R. Wang, W. 2014. “Facile Colorimetric Detector of Hg<sup>2+</sup> based on Anti-Aggregation of Silver Nanoparticles.” *Biosensors and Bioelectronics*. 57 : 139-142
9. Ping, H. Zhang, M. Li, H. Li, S. Chen, Q. Sun, C. 2011. “Visual Detection of Melamine in Raw Milk by Label-Free Silver Nanoparticles.” *Food Control*. 23 : 191-197
10. chun Qu, J. ping Chang, Y. hua Ma, Y. min Zheng, J. hong Li, H. qian Ou, Q. Ren, C. guo Chen, X. 2012. “A Simple and Sensitive Colorimetric Method for the Determination of Propafenone by Silver Nanoparticles.” *Sensors and Actuators B: Chemical*. 174 : 133-139
11. สุดเขต ไชโย. 2555. “การพัฒนาวีธีการวิเคราะห์ทองแดงและปรอทปริมาณน้อยโดยสหรับปิงโวลแทมเมตรี.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.
12. อรฉัตร เลิศอิทธิพร. 2557. “การสังเคราะห์และประยุกต์ใช้ซิงซ์ลไฟด์ควอนตัมดอทในการตรวจวัดปริมาณปรอท (II) โดยอาศัยเทคนิคซีเควินเซียลอินเจคชันและเทคนิคสเปกโทรฟลูออโรเมตรี.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
13. ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์. ตำราเครื่องมือวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
14. Hayat, A. Jahangir, T.M. Khuhawar, M.Y. Alamgir, M. Siddiqui, A.J. Musharraf, S.G. 2014. “Simultaneous HPLC Determination of Gamma Amino Butyric Acid (GABA) and Lysine in Selected Pakistani Rice Varieties by Pre-Column Derivatization with 2-Hydroxynaphthaldehyde.” *Journal of Cereal Science*. 60 :

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

15. Horanni, R. Engelhardt, U.H. 2013. "Determination of Amino acid in White, Green, Black, Oolong, Pu-erh teas and Tea product." *Journal of food Composition and Analysis*. 31 : 94-100
16. Ling, J. Sang, Y. Huang, C.Z. 2008. "Visual Colorimetric Detection of Berberine Hydrochloride with Silver Nanoparticles." *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 47 : 860-864



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้