การตรวจวัดกาบาในเมล็ดข้าวด้วยอนุภาคนาโนเงินที่ถูกดัดแปลงพื้นผิวโดยใช้สมาร์ตโฟน

DETECTION OF GABA IN RICE BASED ON MODIFIED SILVER NANOPARTICLES BY USING A SMARTPHONE

Ladnaphone Hadaoheuang

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

2566

การตรวจวัดกาบาในเมล็ดข้าวด้วยอนุภาคนาโนเงินที่ถูกดัดแปลงพื้นผิวโดยใช้สมาร์ตโฟน

Ladnaphone Hadaoheuang

ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
การศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ปีการศึกษา 2566

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

DETECTION OF GABA IN RICE BASED ON MODIFIED SILVER NANOPARTICLES BY USING A SMARTPHONE

LADNAPHONE HADAOHEUANG

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of MASTER OF EDUCATION

(Chemistry)

Faculty of Science, Srinakharinwirot University

2023

Copyright of Srinakharinwirot University

ปริญญานิพนธ์

เรื่อง

การตรวจวัดกาบาในเมล็ดข้าวด้วยอนุภาคนาโนเงินที่ถูกดัดแปลงพื้นผิวโดยใช้สมาร์ตโฟน

ของ

Ladnaphone Hadaoheuang

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี

ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉัตรชัย เอกปัญญาสกุล)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์

..... ที่ปรึกษาหลัก

(รองศาสตราจารย์ ดร.แพน ทองเรือง)

..... ประธาน

(อาจารย์ ดร.นุจรินทร์ วะสุกัน)

..... ที่ปรึกษาร่วม

(อาจารย์ ดร.ศุภกาญจน์ รัตนกร)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิยรัตน์ ศรีวิไล)

ชื่อเรื่อง	การตรวจวัดกาบาในเมล็ดข้าวด้วยอนุภาคนาโนเงินที่ถูกดัดแปลงพื้นผิวโดยใช้สมาร์ตโฟน
ผู้วิจัย	Ladnaphone Hadaoheuang
ปริญญา	การศึกษามหาบัณฑิต
ปีการศึกษา	2566
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. แพน ทองเรือง
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	อาจารย์ ดร. ศุภกาญจน์ รัตนกร

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินที่ถูกดัดแปลงพื้นผิวเพื่อเป็นเซ็นเซอร์ทางเคมีที่อาศัยการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายในการตรวจวัดปริมาณกาบาอย่างง่าย โดยมีซิเตรท อีดีทีเอและซิเตรท-อีดีทีเอเป็นตัวดัดแปลงพื้นผิว พิสูจน์โครงสร้างของอนุภาคนาโนเงินด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตรเมทรี (UV-visible spectrophotometry) กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) และการกระเจิงแสงแบบพลวัต (DLS) ศึกษาการจับกับกาบาของอนุภาคนาโนเงินที่ถูกดัดแปลงพื้นผิวทั้ง 3 ชนิด พบว่ามีเพียงอนุภาคนาโนเงินที่ถูกดัดแปลงพื้นผิวด้วยซิเตรท (CT-AgNPs) ที่สามารถหาปริมาณกาบาได้ โดยค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 393 นาโนเมตรลดลงและเกิดพีคใหม่ที่ 500 - 600 นาโนเมตร สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายจากสีเหลืองเป็นสีเขียว สามารถประยุกต์ใช้งานร่วมกับสมาร์ตโฟนผ่านแอปพลิเคชัน PhotoMetrix ทำให้ได้ข้อมูลภาพถ่ายความเข้มสี RGB พบว่าค่าความเข้มสีเขียว (G) มีความเข้มเพิ่มขึ้นแปรตามปริมาณกาบาและมีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 50 - 500 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สัมพันธ์เชิงเส้น (R^2) เท่ากับ 0.9757 ค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (LOD) เท่ากับ 44.20 มิลลิกรัมต่อลิตรและค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์เชิงปริมาณได้ (LOQ) เท่ากับ 147.00 มิลลิกรัมต่อลิตร CT-AgNPs สามารถประยุกต์ใช้เป็นเซ็นเซอร์เชิงแสงสำหรับการตรวจวัดกาบาในข้าวโดยวิธีสมาร์ตโฟนได้

คำสำคัญ : กาบา เซ็นเซอร์เชิงแสง อนุภาคนาโนเงิน สมาร์ตโฟน

Title	DETECTION OF GABA IN RICE BASED ON MODIFIED SILVER NANOPARTICLES BY USING A SMARTPHONE
Author	LADNAPHONE HADAOHEUANG
Degree	MASTER OF EDUCATION
Academic Year	2023
Thesis Advisor	Associate Professor Doctorate Pan Tongraung
Co Advisor	Lecturer Dr. Supakan Ratanakon

The research aims to synthesize a modified surface of silver nanoparticles (AgNPs) to serve as a chemosensor through a simple colorimetric method for detecting gamma-amino butyric acid (GABA) content. Sodium citrate (CT), EDTA and a CT-EDTA were evaluated as surface-modifying agents to enhance the detection of GABA. The characterization of the CT-AgNPs, EDTA-AgNPs and CT-EDTA-AgNPs was conducted using various techniques including UV-visible spectrophotometry, transmission electron microscopy (TEM) and dynamic light scattering (DLS). The results indicated that only CT-AgNPs were effective in quantifying GABA content resulting in a decrease of absorbance at a wavelength of 393 nm. A new peak emerged at 500 – 600 nm, corresponding to a color change in the solution from yellow to green. This method can be compatible with a smartphone using the PhotoMetrix application for GABA detection. Through the collection of RGB color intensity data, it was observed that the green color intensity increased linearly with GABA concentration in the range of 50 - 500 mg/L, with a linear correlation coefficient R^2 value of 0.9757. The limit of detection (LOD) was 44.20 mg/L and the limit of quantification (LOQ) was 147.00 mg/L. The study concludes that CT-AgNPs can be utilized as a colorimetric sensor for determining GABA levels in rice using a smartphone-based method.

Keyword : GABA Colorimetric sensor AgNPs Smartphone

กิตติกรรมประกาศ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี โดยผู้วิจัยได้รับความกรุณาจาก รองศาสตราจารย์ ดร.แพน ทองเรือง ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาหลัก และ อ.ดร. ศุภกาญจน์ รัตนกร อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมท่านทั้งสองเมตตาคอยให้คำแนะนำ คำปรึกษา ได้ช่วยตรวจสอบ แก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ตลอดการดำเนินการวิจัย ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งใจและสำนึกในพระคุณเป็นอย่างยิ่ง จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ ดร. นุจรินทร์ วะสุกัน ที่กรุณาให้เกียรติเป็นประธานกรรมการในการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปิยรัตน์ ศรีวิไล เป็นกรรมการควบคุมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์ ซึ่งได้กรุณาตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้ถูกต้องสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณัฐพล อภิรติกุลและคณาจารย์ภาควิชาเคมีทุกท่านที่ให้ความเมตตา ช่วยเหลือผู้วิจัยตลอดมา

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาเคมีทุกท่าน ที่คอยให้ความสนับสนุนทั้งสถานที่และอุปกรณ์ตลอดจนถ่ายทอดความรู้ ทำให้ผู้วิจัยได้เรียนรู้และมีทักษะในการใช้เครื่องมือมากยิ่งขึ้น ขอขอบพระคุณกรมความร่วมมือระหว่างประเทศ (TICA) ที่สนับสนุนทุนการศึกษามาตลอดและขอขอบคุณพี่น้องในห้องปฏิบัติการที่คอยเป็นกำลังใจ ให้คำแนะนำและช่วยเหลือในการทำวิจัย ปริญญานิพนธ์เล่มนี้คงไม่สามารถผ่านพ้นไปได้โดยง่ายหากปราศจากกำลังใจจากทุกคนที่คอยสนับสนุนผู้วิจัยในทุก ๆ ด้าน จนทำให้ผู้วิจัยสามารถประสบความสำเร็จได้ในครั้งนี้

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณบิดามารดา ครอบครัว และผู้มีพระคุณทุกท่าน ที่สนับสนุนเปิดโอกาสให้ได้รับการศึกษาและเป็นกำลังใจในการศึกษาครั้งนี้จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

Ladnaphone Hadaoheuang

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ฌ

สารบัญรูปภาพ ..... ญ

บทที่ 1 บทนำ 1

ภูมิหลัง 1

ความมุ่งหมายของการวิจัย 3

ความสำคัญของการวิจัย 3

ขอบเขตของการวิจัย 4

นิยามศัพท์เฉพาะ 4

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 6

1. อนุภาคนาโนเงิน 6

2. การสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน 8

3. กาบาและประโยชน์ของกาบา 10

4. หลักการทำงานของ PhotoMetrix 13

5. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 15

บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย 24

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย 24

สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย 25

วิธีดำเนินการทดลอง 25

บทที่ 4 ผลการทดลอง 31

1. การสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินที่มีผิวเป็นลบโดยการดัดแปลงพื้นผิวด้วยซิเตรทและอีดีทีเอ 32

2. การพิสูจน์โครงสร้างของอนุภาคนาโนเงินที่มีผิวเป็นลบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission Electron Microscope; TEM) และเทคนิคการกระเจิงแสงแบบพลวัต (Dynamic light Scattering; DLS) 34

3. การศึกษาความคงตัวของอนุภาคนาโนเงินทั้ง 3 ชนิดที่สังเคราะห์ได้ CT-AgNPs, EDTA-AgNPs และ CT-EDTA-AgNPs 36

4. การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการตรวจวัดกาบาได้แก่ ความเข้มข้นของบัฟเฟอร์อะซิเตรท (ionic strength) และเวลาในการเกิดปฏิกิริยาโดยยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปีและสมาร์ตโฟน 38

5. การศึกษาประสิทธิภาพการจับกันระหว่าง CT- AgNPs กับกาบาด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี 41

6. การศึกษาประสิทธิภาพการจับกันระหว่าง CT- AgNPs กับกาบาด้วยเทคนิคสมาร์ตโฟน.. 43

7. การศึกษาการรบกวนของไอออนที่เจือปนในเมล็ดข้าวที่ส่งผลต่อการจับกันของ CT-AgNPs กับกาบาด้วยเทคนิคสมาร์ตโฟน 44

8. ประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนเงินที่มีพื้นผิวเป็นลบเพื่อเป็นเซนเซอร์ทางเคมีสำหรับตรวจวัดปริมาณกาบาในตัวอย่างเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์กข 6 โดยใช้สมาร์ตโฟน 46

บทที่ 5 สรุปผล อภิปรายผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ 47

บรรณานุกรม 50

ประวัติผู้เขียน 56

สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง 1 การตรวจหาปริมานกาบาด้วยเทคนิคต่างๆ 13

ตาราง 2 ปริมาณของกาบาในตัวอย่างข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ กข 6 เมื่อนำมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคสมาร์ตโฟน..... 46

สารบัญรูปภาพ

หน้า

ภาพประกอบ 1 (ก) โครงสร้างของโซเดียมซิเตรท และ(ข) อีดีทีเอ 3

ภาพประกอบ 2 การเกิดปรากฏการณ์เซอร์เฟสพลาสมอนเรโซแนนซ์ โดยแสดงการสั่นของอิเล็กตรอนอิสระในแถบเหนี่ยวนำระหว่างรอยต่อของอนุภาค..... 7

ภาพประกอบ 3 แสดงการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายอนุภาคนาโนทอง (AuNPs) เมื่อขนาดและรูปร่างของอนุภาคนาโนเปลี่ยนไป..... 8

ภาพประกอบ 4 กระบวนการ decarboxylation ของ glutamate 10

ภาพประกอบ 5 pathway ที่เกี่ยวข้องกับ GABA – shunt 11

ภาพประกอบ 6 กลไกการตอบสนองต่อความเครียดและการสังเคราะห์กาบาในเซลล์พืช..... 12

ภาพประกอบ 7 อินเทอร์เฟซของแอปพลิเคชัน PhotoMetrix (A) หน้าจอหลัก (B) หน้าจอการตั้งค่า (C) ตัวเลือกรูปแบบสีสำหรับการวิเคราะห์ตัวแปรเดียว และ(D) อินเทอร์เฟซสำหรับการวิเคราะห์ตัวแปรเดียว 14

ภาพประกอบ 8 ภาพถ่ายของการรวมตัวของ AgNPs ที่เติมด้วย (a) rizatriptan (b)naratriptan (c)sumatriptan และ(d) zolmitriptan ในช่วงความเข้มข้น 0.001 - 1.00 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ 15

ภาพประกอบ 9 แผนภาพการรวมตัวของ CT-AgNPs เมื่อหมู่ไฮดรอกซิลและคาร์บอกซิลของซิเตรทบริเวณพื้นผิวอนุภาคนาโนเกิดอันตรกิริยากับ Cr^{3+} 16

ภาพประกอบ 10 การกำหนดค่าของการฉีดตามลำดับด้วยการกระเจิงแสงลำดับที่สองเพื่อตรวจหาปริมาณกาบา..... 17

ภาพประกอบ 11 แผนผังของการตรวจวัดสีของกาบาโดยอนุภาคนาโนเงินที่มีการดัดแปลงพื้นผิวด้วยซิเตรท 18

ภาพประกอบ 12 สเปกตรัม SPR และ TEM ของสารละลายอนุภาคนาโนเงินในสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรท (a) ไม่มีกาบา (b) เติมกาบา 300 มิลลิกรัมต่อลิตร 18

ภาพประกอบ 13 แผนภาพระบบวิเคราะห์ที่ประกอบขึ้นเพื่อให้ได้มาซึ่งภาพดิจิทัลในการหาค่า Fe^{3+} ในเชื้อเพลิงไบโอเอทานอล 19

ภาพประกอบ 14 หลักการแผนผังของการตรวจจับ *S. salivarius* และ *S. sanguinis* พร้อมกันในน้ำลายด้วยแพลตฟอร์มการตรวจโดยใช้สมาร์ตโฟน 20

ภาพประกอบ 15 ภาพประกอบแสดงของกลไกการรวมตัวของ Cr^{3+} ที่เป็นไปได้ของ EDTA-TA-AgNPs 21

ภาพประกอบ 16 การเตรียม VPA-AuNPs และกลไกที่เป็นไปได้ของการตรวจจับ UO_2^{2+} 22

ภาพประกอบ 17 กลไกการรวมตัวเหนี่ยวนำระหว่าง Mn^{2+} กับ EDTA-CT-MA-AgNPs 23

ภาพประกอบ 18 (ก) ลักษณะสีของสารละลาย CT-AgNPs ที่สังเคราะห์ได้ และ (ข) สเปกตรัมในช่วง 300 – 700 นาโนเมตรของ CT-AgNPs 32

ภาพประกอบ 19 (ก) ลักษณะสีของสารละลาย EDTA-AgNPs (ข) สเปกตรัมในช่วง 300 – 700 นาโนเมตรของ EDTA-AgNPs 33

ภาพประกอบ 20 (ก) ลักษณะสีของสารละลาย CT-EDTA-AgNPs ที่สังเคราะห์ได้ และ (ข) สเปกตรัมในช่วง 300 – 700 นาโนเมตร 34

ภาพประกอบ 21 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านและขนาดของ (ก) CT-EDTA-AgNPs (ข) EDTA-AgNPs และ (ค) CT-EDTA-AgNPs 35

ภาพประกอบ 22 แสดงการกระจายตัวจากเทคนิคการกระเจิงแสงแบบพลวัต (DLS) ของ (ก) CT-AgNPs (ข) EDTA-AgNPs (ค) CT-EDTA-AgNPs 36

ภาพประกอบ 23 (ก) สเปกตรัมของ CT-AgNPs และ(ข) ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 393 นาโนเมตรของอนุภาคนาโนเงินทั้ง 3 ชนิดที่วัดได้ภายในระยะเวลา 30 วัน 37

ภาพประกอบ 24 ลักษณะสีของสารละลายที่เติมกาบาเข้มข้น 50 250 และ 400 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก) CT-AgNPs (ข) EDTA-AgNPs (ค) CT-EDTA-AgNPs 38

ภาพประกอบ 25 แสดงผลความเข้มข้นของบัฟเฟอร์อะซิเตรทในช่วง 0.1 – 1.0 โมลาร์ ในการจับกับกาบาของอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ได้ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี 39

ภาพประกอบ 26 แสดงผลความเข้มข้นของบัฟเฟอร์อะซิเตรทในช่วง 0.1 – 1.0 โมลาร์ ในการจับกับกาบาของอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ได้ด้วยเทคนิคสมาร์ตโฟน 40

ภาพประกอบ 27 ค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลง ที่ความยาวคลื่น 393 นาโนเมตร ของสารผสมระหว่าง CT-AgNPs และกาบาที่ความเข้มข้น 0 100 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ในช่วงเวลา 1 - 10 นาที 41

ภาพประกอบ 28 สเปกตรัมของ CT-AgNPs เมื่อจับกับกาบา 42

ภาพประกอบ 29 (ก) ภาพถ่าย TEM ของ CT-AgNPs ที่ไม่มีกาบา (ข) ภาพถ่าย TEM ของ CT-AgNPs ที่มีกาบา (ค) Zeta potential ของ CT-AgNPs ที่ไม่มีกาบา (ง) Zeta potential ของ CT-AgNPs ที่มีกาบา 42

ภาพประกอบ 30 กราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างความเข้มข้นของกาบากับ CT-AgNPs ที่ 393 นาโนเมตร 43

ภาพประกอบ 31 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของกาบากับความเข้มของสีเขียว 44

ภาพประกอบ 32 กราฟแสดงค่าความเข้มของสีเขียว (ก) หลังการเติมไอออนชนิดต่าง ๆ ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และ(ข)หลังการเติมไอออนชนิดต่าง ๆ ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร 45

บทที่ 1
บทนำ

ภูมิหลัง

Gamma-amino butyric acid (GABA) หรือกาบาเป็นกรดอะมิโนกระจายอยู่ทั่วไปในสิ่งที่มีชีวิต ทั้งพืช สัตว์และจุลินทรีย์ ได้มีการสังเคราะห์สารประกอบกาบาขึ้นเป็นครั้งแรกในปี พ.ศ. 2426 โดยคิดว่าเป็นสารเมแทบอไลต์ในพืชและจุลินทรีย์ เท่านั้น จากการวิจัยในภายหลังแสดงให้เห็นว่ากาบาเป็นสารสื่อประสาทชนิดยับยั้ง (inhibitory neurotransmitter) ในระบบประสาทส่วนกลาง (Yokozawa et al., 2004) โดยมีบทบาทในการรักษาความผิดปกติของระบบประสาทต่างๆ (Ting Wong et al., 2003) และมีหน้าที่ทางสรีรวิทยา เช่น ควบคุมการทำงานของระบบหัวใจและหลอดเลือด (Gordon & Sved, 2002; Kim et al., 2004; Shizuka et al., 2004) และยังช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งบางชนิด (Al-Wadei et al., 2011; Minuk, 2000) ควบคุมการทำงานของต่อมใต้สมอง (Gamel-Didelon et al., 2002) ปรับการทำงานของไต (Kim et al., 2004) นอกจากนี้ยังพบว่ากาบามีผลต่อการบรรเทาอาการผิดปกติต่อร่างกาย เช่น ช่วยขับปัสสาวะ มีฤทธิ์ต้านเบาหวาน (Chen et al., 2016) ลดความดันโลหิตสูงและลดคอเลสเตอรอล (Inoue et al., 2003) เพื่อให้ร่างกายได้รับปริมาณกาบาที่เหมาะสมหรือเพียงพอกับความต้องการควรรับประทานอาหารที่มีกาบา ซึ่งแหล่งอาหารที่พบกาบาในปริมาณสูงได้แก่ ในข้าวกล้องงอก (germinated brown rice) ถั่วเหลือง ชาเขียว (Cho et al., 2011) เป็นต้น โดยปริมาณกาบาเฉลี่ยที่ตรวจพบในข้าวกล้องงอกคือ 6.50-10.10 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม (Karladee & Suriyong, 2012) ซึ่งมีปริมาณสูงกว่าข้าวกล้องปกติ 15 เท่า (Mamiya et al., 2007) อย่างไรก็ตามหากร่างกายได้รับกาบามากเกินไปอาจนำไปสู่อาการผิดปกติ เช่น ท้องอืด เหน็บชาตามปลายมือปลายเท้า และหายใจเหนื่อยหอบ ดังนั้นการตรวจสอบและควบคุมปริมาณของกาบาในเมล็ดข้าวและอาหารประเภทต่าง ๆ โดยอาศัยวิธีการตรวจหาที่สะดวกและรวดเร็ว ก่อนรับประทานเข้าสู่ร่างกาย จึงเป็นสิ่งที่จำเป็น จากความสำคัญของกาบาที่กล่าวมาข้างต้น ได้มีการตรวจหาปริมาณของกาบาในสารตัวอย่างด้วยเทคนิคมาตรฐานที่มีความเที่ยง ความแม่นยำที่ดี มีประสิทธิภาพและความไวสูงเช่น electrochemistry (Niwa et al., 1998) High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) (Hayat et al., 2014; Le et al., 2020; Zieminska et al., 2018)แ ล ะ MEGA-PRESS spectroscopy (Mullins et al., 2014) อย่างไรก็ตาม เทคนิคเหล่านี้ยังมีข้อจำกัดในด้านการเตรียมสารตัวอย่างที่ค่อนข้างยุ่งยาก การใช้อุปกรณ์และเครื่องมือจำเป็นต้องอาศัยผู้ที่มีทักษะในการใช้

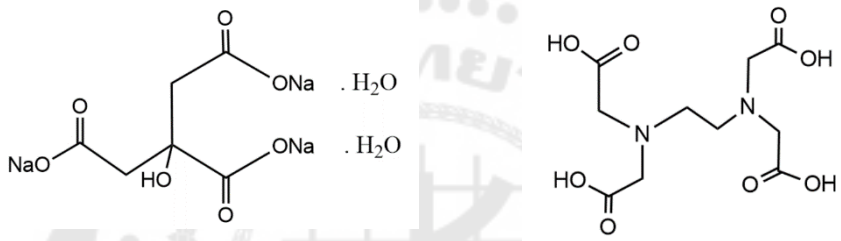
เครื่องมือขั้นสูง เครื่องมือมีขนาดใหญ่และราคาแพง ทำให้มีขีดจำกัดในการพัฒนาเป็นชุดทดสอบหรือชุดเครื่องมือขนาดเล็กเพื่อนำไปใช้งานได้จริงในภาคสนาม

Colorimetric sensor เป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับการตรวจหาปริมาณกาบา เนื่องจากเป็นเทคนิคที่สามารถเห็นการเปลี่ยนแปลงสีด้วยตาเปล่า โดยการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ที่มีหมู่ chromophores เช่น งานวิจัยของ Sheng และคณะ (Sheng et al., 2021) ได้ตรวจหากาบาโดยใช้ลิแกนด์ทำให้เกิดสีคือ 7,7,8,8-tetracyanodimethane หรืองานวิจัยของ Sangubotla และKim ได้มีการสังเคราะห์ Corn-derived fluorescent Carbon Dots (CCD) ที่มีการวิเคราะห์หาปริมาณกาบาในน้ำหล่อเลี้ยงสมองและไขสันหลังมนุษย์ โดยการทำงานร่วมกับเอนไซม์ GABase เมื่อจับกับกาบาจะเกิดการระงับแสงฟลูออเรสเซนต์ (Sangubotla & Kim, 2019) แต่งานวิจัยเหล่านี้ค่อนข้างยุ่งยากในการใช้งาน ทั้งโครงสร้างที่สังเคราะห์ได้ยากและใช้ตัวทำละลายที่ไม่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และต้องทำงานร่วมกับเอนไซม์อื่นด้วย และที่สำคัญ chromogenic sensor เหล่านี้ต้องใช้เครื่องวัดการดูดกลืนแสงและเครื่องวัดฟลูออเรสเซนต์ในการตรวจหาจึงไม่เหมาะสมที่จะนำไปใช้ในภาคสนาม ด้วยข้อจำกัดนี้ได้มีการนำอนุภาคนาโนเงินที่มีคุณสมบัติเชิงแสง เนื่องด้วยปรากฏการณ์ Surface Plasmon Resonance (SPR) ทำให้อนุภาคนาโนเงินมีสีที่แตกต่างกันขึ้นกับขนาดและรูปร่าง (Kajikawa, 2018) ที่สำคัญสังเคราะห์ง่ายและใช้ตัวทำละลายที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม มีค่า molar extinction coefficient สูง (Kumar & Anthony, 2014; Qi et al., 2017) Jinnarak และคณะ (Jinnarak & Teerasong, 2016) ได้รายงานการตรวจวัดกาบาในอาหารเสริม ที่ง่าย สะดวกและรวดเร็ว โดยใช้อนุภาคนาโนที่ดัดแปลงพื้นผิวด้วยซิเตรท สามารถมองเห็นการเปลี่ยนแปลงสีด้วยตาเปล่า พบช่วงในการตรวจวัดกาบา 100-500 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่า LOD เท่ากับ 57.7 มิลลิกรัมต่อลิตร ถึงแม้จะมองเห็นการเปลี่ยนแปลงสีด้วยตาเปล่าแต่การติดตามปฏิกิริยายังคงเป็นเครื่องมือใหญ่ ไม่สะดวกในการใช้งานในภาคสนามได้

ปัจจุบันมีรายงานงานวิจัยที่มีการใช้สมาร์ตโฟนในการวิเคราะห์ตัวอย่างโดยการสังเกตการเปลี่ยนสีแปรตามปริมาณสารตัวอย่างกันอย่างแพร่หลายและเป็นที่นิยมอย่างมาก (Sajed et al., 2019; Shahvar et al., 2020) เช่น งานวิจัยของ Sangsin และคณะ (Sangsin et al., 2021) มีการใช้สมาร์ตโฟนหาปริมาณ Cr^{3+} ในอาหารเสริมที่ง่าย ไม่ยุ่งยาก โดยใช้อนุภาคนาโนเงินที่ถูกดัดแปลงพื้นผิวด้วยอีดีทีเอและกรดแทนนิก ในการจับกับ Cr^{3+} แล้วเกิดการรวมตัวเห็นการเปลี่ยนแปลงสีจากสีเหลืองเป็นสีแดง สามารถประยุกต์ใช้กับสมาร์ตโฟนผ่านแอปพลิเคชัน “PhotoMetrix” ถ่ายภาพจะได้ค่า RGB (สีแดง (R), สีเขียว (G)และสีน้ำเงิน (B)) โดยความเข้มของสีแดงแปรตามปริมาณของ Cr^{3+} ทำให้สามารถหาปริมาณ Cr^{3+} ในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมได้ หรือ

งานวิจัยของ Sungwienwong และคณะ (Sungwienwong et al., 2023) ก็ได้สังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินที่ถูกดัดแปลงพื้นผิวด้วยซิเตรท เมลามีน และกรดเอทิลีนไดเอมีนเตตระแอซีติก (EDTA) เมื่อจับกับ Mn^{2+} ที่ pH 10 จะเกิดการเปลี่ยนสีจากสีเหลืองเป็นสีน้ำตาลอมแดงสามารถหาปริมาณ Mn^{2+} ในตัวอย่างน้ำโดยใช้ สมาร์ตโฟนผ่านแอปพลิเคชัน “PhotoMetrix” เช่นกัน

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินที่มีผิวเป็นลบด้วยการดัดแปลงพื้นผิวด้วยซิเตรทหรืออีดีทีเอ แสดงในภาพประกอบ 1 (ก) และ (ข) ทำให้ผิวเป็นลบสามารถจับกับกาบาด้วยแรงดึงดูดระหว่างประจุ ที่ pH 3.8 เห็นการเปลี่ยนแปลงสีจากสีเหลืองเป็นสีเขียว สามารถประยุกต์ใช้ร่วมกับสมาร์ตโฟนผ่านแอปพลิเคชัน “PhotoMetrix” ในการหาปริมาณกาบาในเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ กข 6



(ก) (ข)

ภาพประกอบ 1 (ก) โครงสร้างของโซเดียมซิเตรท และ(ข) อีดีทีเอ

ความมุ่งหมายของการวิจัย

1. เพื่อสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินที่มีผิวเป็นลบที่มีคุณสมบัติเชิงแสงและเป็น colorimetric sensor สำหรับการตรวจวัดกาบา

2. พัฒนาวิธีการอย่างง่ายโดยใช้อนุภาคนาโนเงินเป็น colorimetric sensor ในการตรวจวัดกาบาในเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ กข 6 โดยใช้สมาร์ตโฟน

ความสำคัญของการวิจัย

1. การสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินโดยวิธีทางเคมี ซึ่งสามารถทำได้ง่ายด้วยตัวดัดแปลงพื้นผิวซิเตรทและอีดีทีเอ ทำให้ได้อนุภาคนาโนเงินที่มีผิวเป็นลบและมีคุณสมบัติเชิงแสง colorimetric sensor ที่มีความเสถียรสูง ซึ่งสามารถพิสูจน์โครงสร้างของอนุภาคนาโนเงินโดยใช้เครื่องวัดการดูดกลืนแสงชนิดแบบอัลตราไวโอเลตและแบบแสงมองเห็น (UV-visible spectrophotometry) กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission Electron Microscope; TEM) และเทคนิคการกระเจิงแสงแบบพลวัต (Dynamic light Scattering; DLS)

2. การหาปริมาณกาบาในเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ กข 6 ด้วยวิธีอย่างง่ายโดยใช้สมาร์ตโฟนร่วมกับแอปพลิเคชัน PhotoMetrix ให้ได้ผลการตรวจวัดที่เที่ยงตรงและแม่นยำเพื่อสามารถใช้งานจริงได้ในภาคสนาม

ขอบเขตของการวิจัย

1. สังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินที่มีผิวเป็นลบโดยการดัดแปลงพื้นผิวด้วยซิเตรทและอีดีทีเอ

2. พิสูจน์โครงสร้างของอนุภาคนาโนเงินที่มีผิวเป็นลบด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงชนิดแบบอัลตราไวโอเลตและแบบแสงมองเห็น (UV-visible spectrophotometry) กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission Electron Microscope; TEM) และเทคนิคการกระเจิงแสงแบบพลวัต (Dynamic light Scattering; DLS)

3. ศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการตรวจวัดกาบาได้แก่ ความเข้มข้นของบัฟเฟอร์อะซิเตรท (ionic strength) และเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา โดยวิธียูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปีและสมาร์ตโฟน

4. ศึกษาประสิทธิภาพของอนุภาคนาโนเงินที่มีผิวเป็นลบในการตรวจวัดกาบาได้แก่ ความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ (LOD) ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์เชิงปริมาณได้ (LOQ) ความแม่นและความเที่ยงโดยยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปีและสมาร์ตโฟน

5. ศึกษาการรบกวนของไอออนที่เจือปนในเมล็ดข้าวที่ส่งผลต่อการวิเคราะห์กาบา ได้แก่ K^{+}, Mn^{2+}, Ca^{2+}, Fe^{3+} และ Zn^{2+} โดยใช้สมาร์ตโฟน

6. ประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนเงินที่มีพื้นผิวเป็นลบเพื่อเป็นเซนเซอร์ทางเคมีสำหรับตรวจวัดปริมาณกาบาในตัวอย่างเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ กข 6 โดยใช้สมาร์ตโฟน

นิยามศัพท์เฉพาะ

อนุภาคนาโนเงิน หมายถึงโลหะเงินที่ถูกดัดแปลงพื้นผิวด้วยซิเตรทหรืออีดีทีเอ ที่มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยในช่วง 3 – 30 นาโนเมตร ซึ่งวัดขนาดด้วยโปรแกรม ImageJ ทำให้พื้นผิวของอนุภาคนาโนเงินมีประจุเป็นลบ สามารถจับกับกาบาในสภาวะ เป็นกรดที่ pH 3.8 ด้วยแรงดึงดูดระหว่างประจุ

กาบา หมายถึง Gamma aminobutyric acid (GABA) ซึ่งเป็นสารมาตรฐานและสารตัวอย่างในเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ กข 6

Colorimetric sensor หมายถึงวิธีการที่อาศัยการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายอนุภาคนาโนจากสีเหลืองเป็นสีเขียวเมื่อเติมสารกาบา

สมาร์ตโฟน หมายถึงโทรศัพท์มือถือที่ประยุกต์ใช้กับกล้องดิจิตอลควบคู่กับ แอปพลิเคชัน “PhotoMetrix “ ถ่ายภาพสารตัวอย่างกาบาที่เกิดการเปลี่ยนแปลงสี (colorimetric sensor) แล้วนำข้อมูลของภาพถ่ายไปหาค่าความเข้มสี RGB หรือ สีแดง (R) สีเขียว (G) และสีน้ำเงิน (B) นำค่า RGB ไปคำนวณเพื่อหาปริมาณกาบา

เมล็ดข้าว หมายถึงตัวอย่างเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ กข 6 ที่ผ่านการแช่น้ำเป็นเวลา 72 ชั่วโมง

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในงานวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยได้ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องและได้นำเสนอตามหัวข้อต่อไปนี้

1. อนุภาคนาโนเงิน
2. การสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน
3. กาบาและประโยชน์ของกาบา
4. หลักการทำงานของ PhotoMetrix
5. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

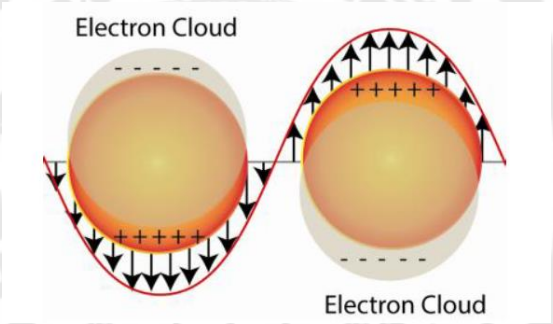
1. อนุภาคนาโนเงิน

อนุภาคนาโนเงินคืออะตอมของเงินที่รวมกันเป็นผลึกมีขนาดในหนึ่งมิติอยู่ในช่วง 1-100 นาโนเมตร อาจเทียบเท่าขนาดของ DNA ในร่างกายมนุษย์ ทำให้มีคุณสมบัติที่แตกต่างออกไปจากโลหะเงินขนาดใหญ่ ทั้งสมบัติทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ อีกทั้งยังมีคุณสมบัติพิเศษได้แก่ 1) มีพื้นที่ผิวต่อปริมาณสูง (high surface-to-volume ratio) ทำให้มีการสังเคราะห์ปรับเปลี่ยนดัดแปลงพื้นผิวของอนุภาคได้ง่าย 2) สมบัติเชิงแสงอันเนื่องมาจากปรากฏการณ์เซอร์เฟสพลาสมอนเรโซแนนซ์ ที่สารละลายของอนุภาคนั้นสามารถเกิดการเปลี่ยนสีได้ตามขนาด รูปร่างและสภาพแวดล้อม ทำให้ถูกนำมาประยุกต์ใช้อย่างแพร่หลายในงานด้านไบโอเซ็นเซอร์ 3) ค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสง (molar extinction coefficients) ของอนุภาคนาโนจะมีค่าสูงกว่าเมื่อเทียบกับสารอินทรีย์ทั่วไป จึงทำให้นิยมนำอนุภาคนาโนมาใช้ในงานการตรวจวัดแสงที่มีประสิทธิภาพ และ 4) คุณสมบัติอื่นๆ เช่น การเป็นตัวนำไฟฟ้าที่ดีในงานด้านอิเล็กทรอนิกส์ อุปกรณ์ทางการแพทย์ รวมถึงความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์สิ่งทอ เป็นต้น (กานต์พิมล กรไกร และรินา ภัทรมานนท, 2560; สนอง เอกสิทธิ์, 2558, มีนาคม)

ปรากฏการณ์เซอร์เฟสพลาสมอนเรโซแนนซ์ (Surface Plasmon Resonance)

ปรากฏการณ์เซอร์เฟสพลามอนเรโซแนนซ์ เป็นปรากฏการณ์เชิงแสงที่จะเกิดขึ้นเมื่อมีแสงจากภายนอกส่องผ่านมาที่วัตถุที่มีขนาดเล็กมาก ทำให้เกิดอันตรกิริยาของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้ากับอิเล็กตรอนบริเวณผิวหน้าของอนุภาค ทำให้อนุภาคนั้น ๆ เกิดการสั่นโดยรวม (collective oscillation) หากคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้ามีความยาวคลื่นเดียวกับความยาวคลื่นที่อิเล็กตรอนสั่น จะทำให้เกิดการกำทอน (resonance) ดังภาพประกอบ 2 ส่งผลให้เกิดอันตรกิริยาได้สองประเภทคือ

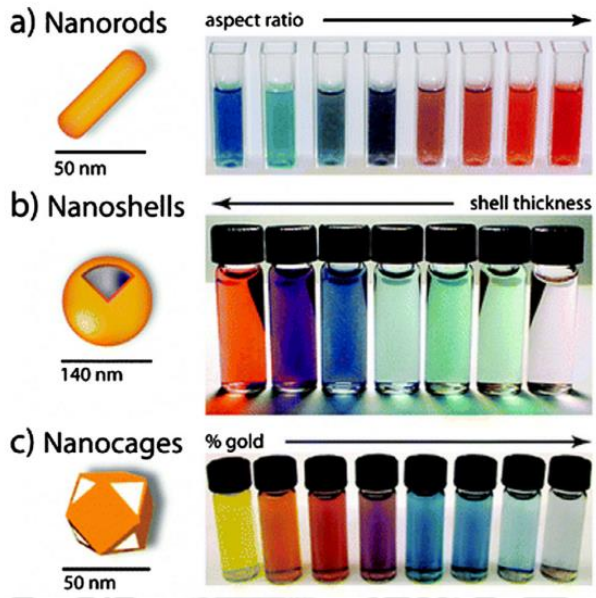
การกระเจิงแสง (scattering) ซึ่งเป็นปรากฏการณ์ที่แสงจากภายนอกมาตกกระทบบนพื้นผิว แสงจะสะท้อนออกไปด้วยความยาวคลื่นเท่าเดิมในทุก ๆ ทิศทาง และการดูดกลืนแสง (absorption) ซึ่งเกิดจากการที่โฟตอนบางส่วนนั้นถูกดูดกลืนเปลี่ยนเป็นพลังงานการสั่นของอนุภาค ทั้งสองอันตรกิริยานี้จะทำให้อนุภาคนาโนมีสีเกิดขึ้นในช่วงของความยาวคลื่นที่ตามองเห็น ซึ่งลักษณะการเกิดปรากฏการณ์เซอร์เฟสพลาสมอนเรโซแนนซ์นี้ขึ้นอยู่กับขนาด รูปร่างของอนุภาค รวมไปถึงองค์ประกอบทางเคมีของอนุภาคอีกด้วย ตัวอย่างเช่น สารละลายอนุภาคนาโนทอง รูปร่างทรงกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 50 นาโนเมตร จะมีความสามารถดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ทำให้สารละลายเป็นสีแดงทับทิม เป็นต้น (อภิวัฒน์ ชมภูสอ, 2556) และอีกมุมหนึ่งคุณสมบัติของอนุภาคนาโนที่สำคัญนั้นคือ ค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสง (extinction coefficients) ของอนุภาคนาโนจะมีค่าสูงกว่าเมื่อเทียบกับสารอินทรีย์ทั่วไป จึงทำให้นิยมนำอนุภาคนาโนมาใช้ในงานการตรวจวัดแสงที่มีประสิทธิภาพ (Wei et al., 2018)



ภาพประกอบ 2 การเกิดปรากฏการณ์เซอร์เฟสพลาสมอนเรโซแนนซ์ โดยแสดงการสั่นของอิเล็กตรอนอิสระในแถบเหนี่ยวนำระหว่างรอยต่อของอนุภาค

ที่มา: อภิวัฒน์ ชมภูสอ. (2556). โครงสร้างระดับนาโนของทอง:การสังเคราะห์และการประยุกต์ใช้ในการรักษาโรคมะเร็ง. *วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*, 41, 859-872.

อนุภาคนาโนโลหะเป็นอนุภาคนาโนที่สังเคราะห์ขึ้นจากสารตั้งต้นที่เป็นโลหะ ซึ่งจะมีคุณสมบัติทางแสงที่กล่าวมาข้างต้นแล้ว อนุภาคที่เป็นโลหะในขนาดระดับนาโน เช่น ทองแดง ทอง หรือเงินนั้น ยังมีช่วงการดูดกลืนแสงที่กว้าง ซึ่งอยู่ในช่วงความยาวคลื่นที่ตามองเห็นได้ (visible zone) ทำให้ง่ายต่อการติดตามสัญญาณที่เปลี่ยนแปลงไป อีกทั้งการสังเคราะห์นั้นสามารถทำได้ง่าย สามารถสังเคราะห์ให้ได้ขนาดและรูปร่างของอนุภาคที่หลากหลาย ทำให้สีของสารละลายของอนุภาคนาโนนั้นเปลี่ยนแปลงไปได้หลากหลายเช่นกัน ดังแสดงในภาพประกอบ 3 (Khan et al., 2019)



ภาพประกอบ 3 แสดงการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายอนุภาคนาโนทอง (AuNPs) เมื่อขนาดและรูปร่างของอนุภาคนาโนเปลี่ยนไป

ที่มา: Khan, I., Saeed, K., & Khan, I. (2019). Nanoparticles: Properties, aplications and toxicities. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(7), 908-931.

2. การสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน

ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินนั้นส่วนใหญ่แล้วมักนิยมใช้สารตั้งต้นที่เป็นสารประกอบของเงิน เช่น ซิลเวอร์เปอร์คลอเลต (silver perchlorate; $AgClO_4$) หรือซิลเวอร์ไนเตรต (silver nitrate; $AgNO_3$) เป็นต้น ซึ่งวิธีการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินนั้นมีด้วยกัน 3 วิธีคือ

วิธีทางกายภาพ (physical method) เป็นวิธีการสังเคราะห์ที่ได้รับความนิยมเนื่องจากอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ได้นั้นจะมีความบริสุทธิ์สูง สามารถควบคุมขนาด รูปร่าง และปริมาณของอนุภาคเงินนาโนได้ง่าย แต่เครื่องมือที่ใช้มักจะมีราคาแพง การสังเคราะห์ด้วยวิธีการทางกายภาพโดยทั่วไปจะใช้วิธีการระเหยและควบแน่น (evaporation-condensation) โดยการใช้เตาเผาแบบหลอดแก้ว (tube furnace) ที่ความดันบรรยากาศ และอีกหนึ่งวิธีที่นิยมใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินคือการยิงด้วยเลเซอร์ (laser ablation) ซึ่งจะสามารถควบคุมขนาดและรูปร่างได้ง่ายด้วยการควบคุมปัจจัยต่าง ๆ เช่น ความยาวคลื่นของเลเซอร์ ความเข้มของแสงเลเซอร์ และเวลาในการยิงเลเซอร์ เป็นต้น

วิธีทางเคมี (chemical method) เป็นวิธีการสังเคราะห์โดยอาศัยปฏิกิริยารีดักชัน ซึ่งจัดว่าเป็นวิธีการสังเคราะห์พื้นฐาน เป็นกระบวนการแบบขั้นตอนเดียว โดยประกอบไปด้วย 3 ส่วนหลัก คือ 1) เกลือซิลเวอร์ (silver salt) นิยมใช้เป็นเกลือซิลเวอร์ไนเตรต ($AgNO_3$) 2) ตัวรีดิวซ์ (reducing agent) ทำการรีดิวซ์ไอออนของเงิน (Ag^+) เปลี่ยนเป็นอะตอม (Ag^0) เช่น โซเดียมซิเตรท (sodium citrate), โซเดียมโบโรไฮไดรด์ (sodium borohydride ($NaBH_4$)), N,N-dimethylformamide (DMF) hydrazine และกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) เป็นต้น 3) สารเพิ่มความคงตัว (stabilizing agent) เป็นสารที่ทำหน้าที่เป็นตัวยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและป้องกันการรวมตัวกัน (aggregation) ของอนุภาคนาโนเงิน เช่น พอลิเอธิลีนไกลคอล (polyethylene glycol), พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (poly vinyl alcohol) เป็นต้น อีกทั้งกระบวนการสังเคราะห์ยังต้องอาศัยพลังงานภายนอกเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เช่น พลังงานความร้อน พลังงานแสง หรือคลื่นไมโครเวฟ เป็นต้น การสังเคราะห์ทางเคมีเป็นวิธีการนิยมใช้อย่างแพร่หลาย สามารถสังเคราะห์ได้รวดเร็วในสภาวะที่ไม่รุนแรง ควบคุมได้ง่าย และยังได้อนุภาคนาโนเงินที่มีขนาดเล็กแพร่กระจายในตัวทำละลายได้อย่างสม่ำเสมออีกด้วย ตัวอย่างเช่น งานวิจัยของ Shrivas และคณะ ทำการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน โดยใช้ $NaBH_4$ เป็นตัวรีดิวซ์ และใช้กรดทาทาริก (tartaric acid) เป็นสารเพิ่มความคงตัว สำหรับใช้เป็นเซ็นเซอร์ตรวจวัดหาปริมาณ Cr(III) และ Cr(VI) ในแหล่งน้ำและตัวอย่างผักได้ (Shrivas et al., 2016)

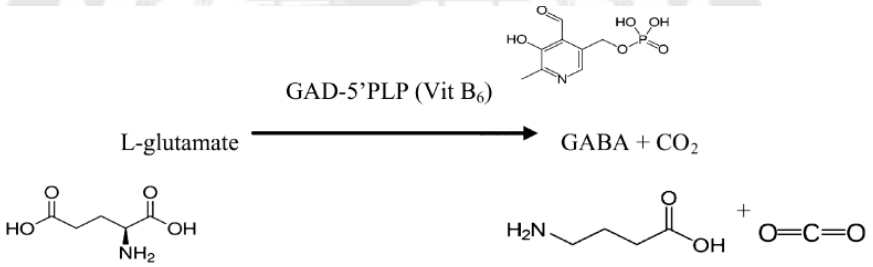
วิธีทางชีวภาพหรือการสังเคราะห์แบบเคมีสะอาด (green synthesis or bio-base method) เป็นวิธีการที่นิยมกันอย่างแพร่หลายในหลาย ๆ กลุ่มงานวิจัย เนื่องจากการสังเคราะห์ด้วยวิธีทางกายภาพนั้น ไม่ใช้สารเคมีที่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม ในขณะที่การสังเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมีนั้นจะต้องใช้พลังงานสูงและใช้สารเคมีที่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม การสังเคราะห์แบบเคมีสะอาดนี้ สามารถทำได้หลากหลายวิธี เช่น การอาศัยเอนไซม์จากเชื้อจุลินทรีย์ หรือการใช้สารสกัดจากพืชเป็นตัวรีดิวซ์และเป็นสารเพิ่มความคงตัว เป็นต้น (Beyene et al., 2017)

ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยสนใจสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินด้วยวิธีทางเคมีเพราะเป็นการสังเคราะห์ที่ทำได้ง่าย รวดเร็ว ควบคุมได้ง่ายในสภาวะที่ไม่รุนแรง และยังได้อนุภาคนาโนเงินให้มีขนาดเล็กไม่เกิน 100 นาโนเมตรแพร่กระจายในตัวทำละลายได้อย่างสม่ำเสมอ โดยใช้ $NaBH_4$ เป็นตัวรีดิวซ์และใช้ซิเตรทและอีดีทีเอเป็นสารเพิ่มความคงตัว เนื่องจากอนุภาคนาโนเงินที่มีขนาดเล็กมาก ๆ จะทำให้ได้ปริมาณพื้นที่ผิวที่สูง สามารถปรับเปลี่ยนพื้นผิวด้วยลิแกนด์ (ligand) ชนิดต่าง ๆ ได้ง่าย เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการจับสารเป้าหมายได้อย่างจำเพาะเจาะจงมากขึ้น นอกจากนี้การสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินสามารถทำได้ง่าย ใช้สารเคมีราคาไม่แพงเมื่อเทียบกับ

การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองคำ อีกทั้งอนุภาคนาโนเงินยังมีค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสงที่สูงกว่าอนุภาคนาโนทองถึง 100 เท่าอีกด้วย (Wei et al., 2018)

3. กาบาและประโยชน์ของกาบา

กาบา (GABA) มีชื่อเต็มว่า Gamma-Aminobutyric Acid (แกมมา-อะมิโนบิวไทริกแอซิด) เป็นสารสื่อประสาทหลักที่กระจายอยู่ทั่วไปในระบบประสาทส่วนกลาง กาบาส่วนใหญ่เกิดจากกระบวนการดีคาร์บอกซิเลชัน (decarboxylation) ของกรดกลูตามิกด้วยเอนไซม์กลูตาเมทคาร์บอกซิเลส (Glutamate Decarboxylase) และโคแฟกเตอร์ pyridoxal 5'phosphate (P5P, วิตามิน B_6) (ภาพประกอบ 4) โดยปกติกาบาในอาหารจะมีปริมาณน้อยมาก กาบาในร่างกายเกือบทั้งหมดจึงได้มาจากการผลิตขึ้นจากโปรตีนในอาหารที่เราบริโภคเข้าไป เนื่องจากสารกาบาเกิดจากการเปลี่ยนรูปของกรดกลูตามิกในร่างกาย ดังนั้นการรับประทานอาหารที่เป็นแหล่งของกรดกลูตามิกจะทำให้ร่างกายสามารถนำไปใช้ในการสร้างสารกาบาได้เช่นกัน โดยอาหารที่เป็นแหล่งของกรดกลูตามิกคือข้าวและเมล็ดพืชที่มีใยอาหารสูง โดยเฉพาะข้าวกล้อง



ภาพประกอบ 4 กระบวนการ decarboxylation ของ glutamate

ที่มา: Diana, M., et al. (2014). Gamma-aminobutyric acid as a bioactive compound in foods: a review. *Journal of functional foods* 10: 407-420.

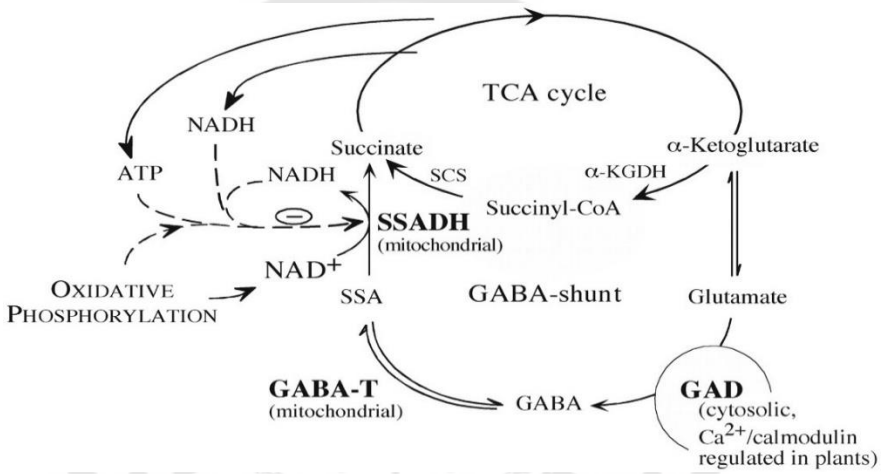
กระบวนการสังเคราะห์กาบามีความเชื่อมโยงกับวัฏจักรเครป วัฏจักรการเปลี่ยนกรดกลูตามิกให้เป็นกรดซัคซินิคโดยมีกาบาเป็นสารระหว่างกลางเรียกว่า GABA shunt ซึ่งประกอบด้วย 3 ขั้นตอน (ภาพประกอบ 5)

ขั้นที่ 1 เริ่มต้นจากปฏิกิริยาที่ผันกลับไม่ได้ของปฏิกิริยา α-decarboxylation ของกรดกลูตามิกโดยเอนไซม์ glutamate decarboxylase(GAD) โดยมีวิตามิน บี 6 และอนุพันธ์เป็นโคเอนไซม์ที่มีความสำคัญในการสังเคราะห์สารกาบาด้วยเช่นกัน (Messer, 2000) มีการทดลอง

การเปลี่ยนกรดกลูตามิกโดยเอนไซม์ GAD พบว่าผลิตผลที่ได้คือ CO_2 และสารกาบา ซึ่งเป็นการพิสูจน์ว่าเอนไซม์ GAD เป็นปฏิกิริยา decarboxylation

ขั้นที่ 2 กาบาจะถูกเปลี่ยนให้เป็นซัคซินิคเซมิแอลดีไฮด์ โดยเอนไซม์ GABA transaminase (GABA-T) ซึ่งปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นนี้เป็นปฏิกิริยาที่ผันกลับได้ โดยเอนไซม์ GABA-T มีช่วงค่า pH ที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 8-10

ขั้นที่ 3 ซัคซินิคเซมิแอลดีไฮด์ จะถูกเปลี่ยนให้เป็นซัคซิเนตโดย succinic semialdehyde dehydrogenase (SSADH) ซึ่งค่าความเหมาะสมของ pH เอนไซม์นี้อยู่ในช่วงประมาณ 9 (Busch & Fromm, 1999)

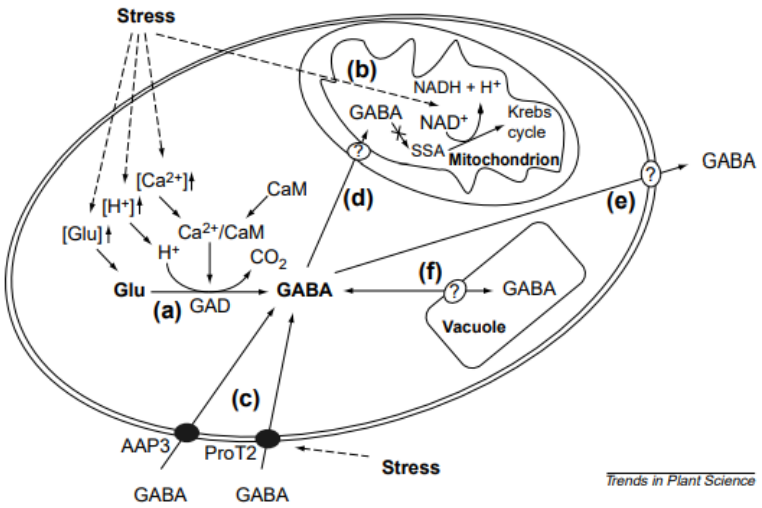


ภาพประกอบ 5 pathway ที่เกี่ยวข้องกับ GABA – shunt

ที่มา: Busch, K., & Fromm, H. (1999). Plant Succinic Semialdehyde Dehydrogenase. Cloning, Purification, Localization in Mitochondria, and Regulation by Adenine Nucleotides. *Plant physiology*, 121, 589-597.

การเพิ่มความเป็นกรดภายในเซลล์พืช ส่งผลให้ปริมาณกาบาในเซลล์พืชมีการสะสมเพิ่มขึ้นด้วย โดยการที่ปริมาณกาบาเพิ่มขึ้นนั้นเป็นกลไกการควบคุมปริมาณ H^+ ภายในเซลล์ เพราะเมื่อกาบาเพิ่มปริมาณมากขึ้น ความเป็นกรดภายในเซลล์ของพืชก็จะลดลง โดยกลไกการสะสมของกาบาในสิ่งมีชีวิตจะตอบสนองต่อความเครียดที่เพิ่มขึ้น (ภาพประกอบ 6) ซึ่งความเครียดที่เพิ่มขึ้นนั้นอาจเกิดขึ้นภายในเซลล์หรือภายนอกเซลล์ก็ได้ โดยความเครียดจะไปกระตุ้นให้ปริมาณ Ca^{2+} H^+ และกลูตาเมตเพิ่มขึ้น โดยสารเหล่านี้จะไปกระตุ้นให้เกิดกระบวนการ decarboxyation อีกทั้งความเครียดยังไปลดอัตราส่วน NAD:NADH ในไมโตคอนเดรีย ซึ่งจะ

ส่งผลให้เกิดการหยุดปฏิกิริยาการเปลี่ยนสาร GABA ให้เป็นซักซิเนตเซมิแอลดีไฮด์ เป็นผลให้สาร GABA ภายในเซลล์เพิ่มสูงขึ้น (Shelp et al., 1999)



ภาพประกอบ 6 กลไกการตอบสนองต่อความเครียดและการสังเคราะห์กาบาในเซลล์พืช

ที่มา: Shelp, B. J., Bown, A. W., & McLean, M. D. (1999). Metabolism and functions of gamma-aminobutyric acid. *Trends in plant science*, 4(11), 446-452.

กาบามีความสำคัญในการทำหน้าที่เป็นสารสื่อประสาท (neurotransmitter) ประเภทสารยับยั้ง (inhibitor) ในระบบประสาทส่วนกลาง หลักการทำงานของกาบาคือ เมื่อสมองหรือระบบประสาทของมนุษย์มีความเครียดมาก ๆ โดยเกิดจากนอร์เอพิเนฟริน (norepinephrine) หรืออิพิเนฟริน (epinephrine) สารพวกนี้เป็นสารที่ทำให้รู้สึกตื่นเต้น เกิดความเครียด ความวิตกกังวล หรือความกลัว โดยกาบามีผลยับยั้งระบบประสาท โดยจะทำหน้าที่รักษาสมดุลในสมองที่ได้รับการกระตุ้น ช่วยทำให้สมองผ่อนคลายและนอนหลับสบาย หากในสมองมีกาบาน้อยเกินไป สมองก็จะคิดปรุงแต่งมากขึ้นเพราะขาดการยับยั้ง อาจทำให้มีอาการวิตกกังวลเพราะหยุดหรือควบคุมความคิดของตนเองไม่ได้

ในปัจจุบันกาบาได้ถูกกล่าวถึงอย่างกว้างขวาง โดยกาบามีผลต่อการบรรเทาอาการผิดปกติต่อร่างกาย เช่น โรคลมบ้าหมู และอาการนอนไม่หลับ แต่อย่างไรก็ตาม กาบาไม่ใช่สารจำเป็น ดังนั้นการบริโภคกาบาเป็นประจำทุกวันจึงไม่ได้รับอนุญาต ผลการศึกษาในเชิงคลินิกวิทยา พบว่าผลข้างเคียงจากการได้รับกาบามากเกินไป อาจนำไปสู่อาการผิดปกติ เช่น ท้องอืด เหน็บชาตามปลายมือปลายเท้า และหายใจเหนื่อยหอบ (The winds of change, 2000) ในเด็กกา

บาจะช่วยเสริมการทำงานของระบบประสาทให้เป็นไปอย่างปกติ และมีประสิทธิภาพมากขึ้น โดยปริมาณที่แนะนำในเด็กนั้นควรได้รับ 0 - 100 มิลลิกรัม สำหรับผู้ใหญ่จะควรได้รับ 250 - 1000 มิลลิกรัม เพื่อให้ร่างกายได้รับสารกาบาให้เพียงพอต่อความอ่อนเพลีย เมื่อยล้า ซึ่งเป็นผลมาจากความเครียด (Medicor, 2007)

3.1 การตรวจหาปริมาณกาบาด้วยเทคนิคต่าง ๆ

จากการสืบค้นเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการตรวจหาปริมานกาบาด้วยเทคนิคต่างๆ สามารถสรุปได้ดังตารางดังนี้

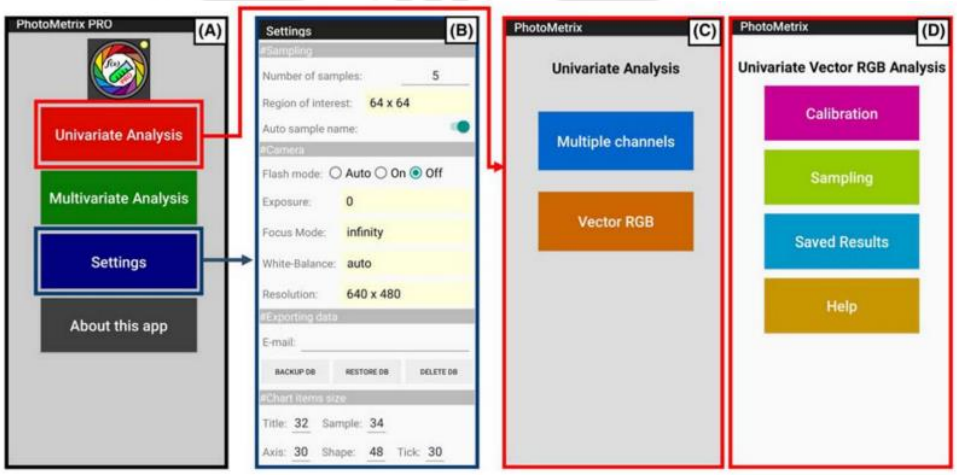
ตาราง 1 การตรวจหาปริมานกาบาด้วยเทคนิคต่างๆ

เทคนิคต่าง ๆ	LOD	**ช่วงการตรวจวัด**	**สารตัวอย่าง**	**อ้างอิง**
UV-visible spectrophotometry	-	10 – 100 นาโนโมล	เนื้อเยื่อพืช	(Zhang & Bown, 1997)
Electrochemistry	0.1 ไมโครโมลาร์	0.1 - 10.0 ไมโครโมลาร์	-	(Niwa et al., 1998)
HPLC	2.8 นาโนกรัม/การฉีด (5 ไมโครลิตร)	1.2 - 28.0 มิลลิกรัมต่อลิตร	น้ำไขสันหลังในสมอง	(Khuhawar & Rajper, 2003)
HPLC	-	3.83 - 34.58 มิลลิกรัมต่อลิตร	ข้าว	(Hayat et al., 2014)
HPLC	-	0.01 – 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร	ไวน์จากข้าว	(Liu et al., 2015)
Sequential injection (SI)+CT-AgNPs	39.6 มิลลิกรัมต่อลิตร	100 - 400 มิลลิกรัมต่อลิตร	อาหาร	(Jinnarak et al., 2016)
CT-AgNPs	57.7 มิลลิกรัมต่อลิตร	100 - 500 มิลลิกรัมต่อลิตร	ผลิตภัณฑ์อาหารเสริม	(Jinnarak & Teerasong, 2016)

4. หลักการทำงานของ PhotoMetrix

แอปพลิเคชัน PhotoMetrix ได้ถูกพัฒนาขึ้นในปี 2015 เพื่อใช้เป็นเครื่องมือในการวิเคราะห์ทางเคมีจากการถ่ายภาพดิจิตอลที่ได้จากกล้องสมาร์ตโฟนและประมวลผลภายใน

อุปกรณ์เดียวกัน ซึ่งเหมาะสมในงานที่ต้องการวิเคราะห์ในภาคสนามหรือในสถานที่จริง ภาพถ่ายในแต่ละเวอร์ชันของแอปพลิเคชันถูกแยกออกเป็นสีหลัก 3 สี คือ สีแดง (R) สีเขียว (G) และสีน้ำเงิน (B) โดยจัดเก็บข้อมูลด้วยรูปแบบโมเดลเพิ่มสีพื้นฐาน จากนั้นแอปพลิเคชันจะวิเคราะห์ภาพด้วยการแยกช่องสีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน (RGB) ซึ่งใช้ฮิสโตแกรม (histogram) ตามโมเดล RGB อีกทางหนึ่งคือจากแยกอิสระของชาเนล (channel) RGB และโมเดลสีที่ได้มาจาก RGB เช่น เฉดสี (H) ความอิ่มตัว (S) ความสว่าง (L) ซึ่งกำหนดสีตามที่ความยาวคลื่น เช่น ความแตกต่างระหว่างสีแดงและสีเหลือง และความอิ่มตัวคือปริมาณของสีที่มีอยู่ เช่น ความแตกต่างระหว่างสีแดงและสีชมพู ส่วนความสว่าง ความเข้ม ความแตกต่างระหว่างสีแดงเข้มและสีแดงอ่อน หรือระหว่างสีเทาเข้มและสีเทาอ่อน (Böck et al., 2020)



ภาพประกอบ 7 อินเทอร์เฟซของแอปพลิเคชัน PhotoMetrix (A) หน้าจอหลัก (B) หน้าจอการตั้งค่า (C) ตัวเลือกรูปแบบสีสำหรับการวิเคราะห์ตัวแปรเดียว และ(D) อินเทอร์เฟซสำหรับการวิเคราะห์ตัวแปรเดียว

ที่มา: Böck, F. C., Helfer, G. A., Costa, A. B., Dessuy, M. B., & Ferrão, M. F. (2020). PhotoMetrix and colorimetric image analysis using smartphones. *Journal of Chemometrics*, 34(12).

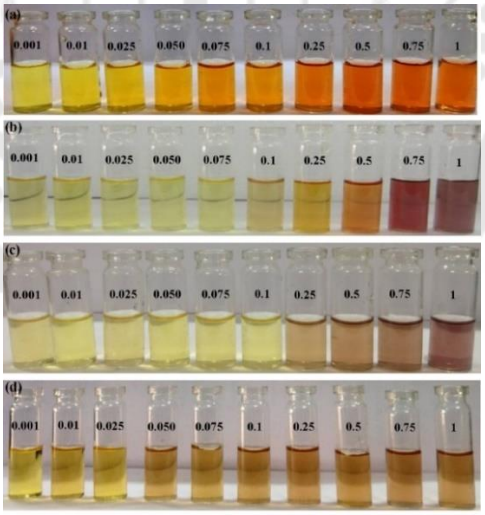
จากภาพประกอบ 7 แสดงอินเทอร์เฟซของแอปพลิเคชัน PhotoMetrix (A) แสดงหน้าจอเริ่มต้นของแอปพลิเคชัน ซึ่งมีตัวเลือกการวิเคราะห์ (ตัวแปรเดียวและหลายตัวแปร) การตั้งค่า และข้อมูลแอปพลิเคชัน (B) แสดงอินเทอร์เฟซการตั้งค่าที่ผู้ใช้สามารถกำหนดพารามิเตอร์ เช่น จำนวนตัวอย่าง ขนาดพื้นที่ที่สนใจ จะใช้แฟลชสมาร์ตโฟนหรือไม่ การตั้งค่าแก้ไขกราฟิก และตัวเลือก

สำหรับการบันทึกข้อมูล เมื่อเลือกตัวเลือก “การวิเคราะห์ตัวแปรเดียว” ที่รูป (A) ขั้นตอนต่อไปคือการกำหนดรูปแบบการสลายตัวของภาพ (C) ซึ่งมีตัวเลือก “Multiple channels” และ “Vector RGB” หลังจากการเลือกแบบฟอร์มการแยกส่วนต่อประสานการวิเคราะห์แบบ univariate จะแสดงขึ้น (รูปภาพ 3 มิติ) ซึ่งเป็นไปได้ที่จะสร้างกราฟมาตรฐานสอบเทียบสาร การสุ่มตัวอย่าง และบันทึกผลลัพธ์ (Böck et al., 2020)

5. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

5.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์ปริมาณสารโดยใช้อนุภาคนาโน

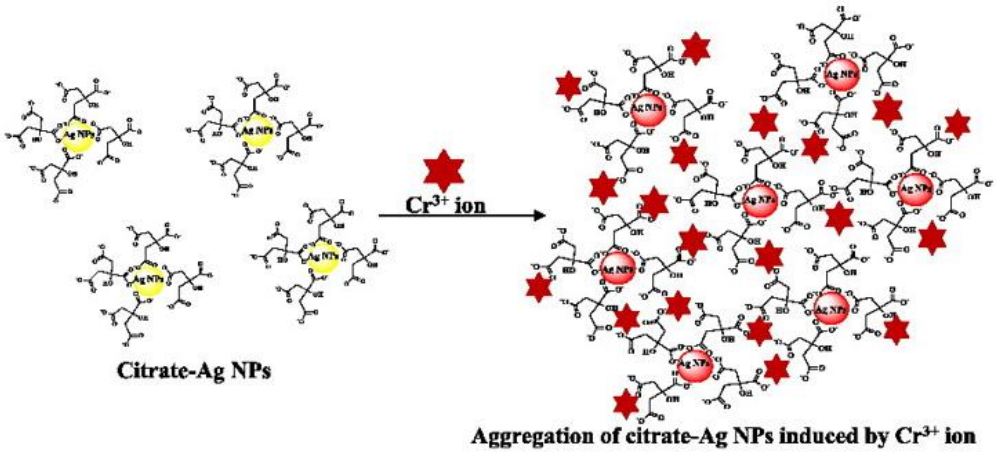
ในปี ค.ศ 2014 Laliwala และคณะ ได้ทำการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินที่ดัดแปลงพื้นผิวด้วยซิเตรทเป็นเซ็นเซอร์สำหรับการตรวจวัดยากลุ่ม triptan 4 ชนิด ได้แก่ rizatriptan, naratriptan, sumatriptan และ zolmitriptan เมื่อเกิดการรวมตัวกันทำให้สารละลายเปลี่ยนสีจากสีเหลืองเป็นสีส้ม ดังภาพประกอบ 8 โดยความเข้มของสีส้มแปรตามปริมาณของยากลุ่ม triptan ทั้ง 4 ชนิด ในช่วงความเข้มข้นของการตรวจวัด 0.001 - 1.0 มิลลิโมลาร์ มีค่า LOD เท่ากับ 7.3, 8.6, 10.5, 84.0 นาโนโมลาร์ ตามลำดับ และสามารถตรวจหายาในกลุ่ม triptan ในตัวอย่างยาทางเภสัชกรรม (Laliwala et al., 2014)



ภาพประกอบ 8 ภาพถ่ายของการรวมตัวของ AgNPs ที่เติมด้วย (a) rizatriptan (b)naratriptan (c)sumatriptan และ(d) zolmitriptan ในช่วงความเข้มข้น 0.001 - 1.00 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ

ที่มา: Laliwala, S. K., Mehta, V. N., Rohit, J. V., & Kailasa, S. K. (2014). Citrate-modified silver nanoparticles as a colorimetric probe for simultaneous detection of four triptan-family drugs. *Sensors and Actuators B: Chemical, 197*, 254-263.

ในปี ค.ศ 2018 Kailasa และคณะ ได้พัฒนาวิธีการตรวจวัดสี โดยการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินที่ดัดแปลงพื้นผิวด้วยซิเตรทได้เป็น CT-AgNPs และ Melamine ได้เป็น MA-AgNPs สำหรับการตรวจวัด Cr^{3+} และ Hg^{2+} ตามลำดับ ผลการทดลองพบว่าอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ขึ้น สามารถเลือกจับกับ Cr^{3+} และ Hg^{2+} ได้ ดังภาพประกอบ 9 ซึ่งทำให้สารละลายเปลี่ยนแปลงสีจากสีเหลืองเป็นสีแดง มีช่วงความเข้มข้นที่สามารถตรวจวัดได้ 10.0 – 50.0 ไมโครโมลาร์ และ 10.0 – 100.0 ไมโครโมลาร์ มีค่า LOD เท่ากับ 0.52 และ 1.80 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ (Kailasa et al., 2018)



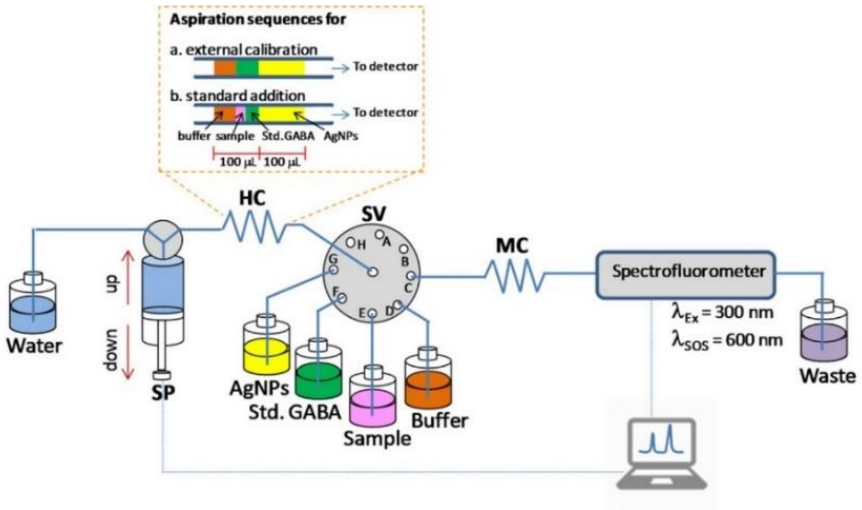
ภาพประกอบ 9 แผนภาพการรวมตัวของ CT-AgNPs เมื่อหมู่ไฮดรอกซิลและคาร์บอกซิลของซิเตรทบริเวณพื้นผิวอนุภาคนาโนเกิดอันตรกิริยากับ Cr^{3+}

ที่มา: Kailasa, S. K., et al. (2018). Influence of ligand chemistry on silver nanoparticles for colorimetric detection of Cr^{3+} and Hg^{2+} ions. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 195, 120-127.

5.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องการการวิเคราะห์ปริมาณกาบาโดยใช้อนุภาคนาโนเงิน

ในปี ค.ศ 2016 Jinnarak และคณะ ได้พัฒนาวิธีการฉีดตามลำดับอัตโนมัติ sequential injection (SI) พร้อมกับการตรวจจับการกระเจิงแสงลำดับที่สอง (SOS) ดังภาพประกอบ 10 สำหรับการตรวจหากาบาในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมและตัวอย่างชาเขียวสำเร็จรูป วิธีการนี้ใช้แรงอันตรกิริยาเป็นแรงดึงดูดทางไฟฟ้าสถิตระหว่างกาบาและอนุภาคนาโนเงินที่ถูกดัดแปลงพื้นผิวด้วยซิเตรท (CT-AgNPs) ในบัฟเฟอร์อะซิเตรท ที่ pH 3.8 ความเข้มข้นของ SOS

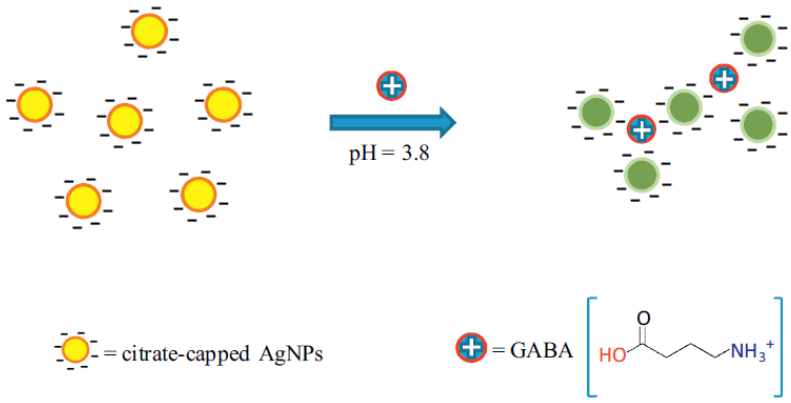
จะแปรผันตามความเข้มข้นของกาบาในช่วงความเข้มข้น 100 - 400 มิลลิกรัมต่อลิตรและมีค่า LOD เท่ากับ 39.60 มิลลิกรัมต่อลิตร (Jinnarak et al., 2016)



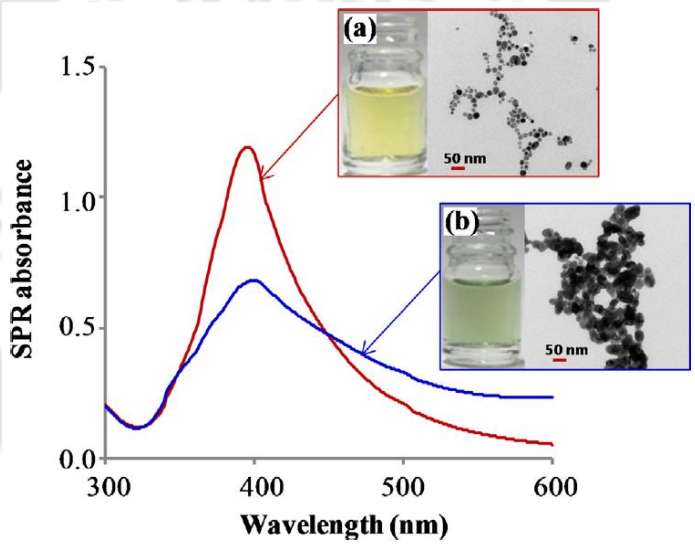
ภาพประกอบ 10 การกำหนดค่าของการฉีดตามลำดับด้วยการกระเจิงแสงลำดับที่สองเพื่อตรวจหาปริมาณกาบา

ที่มา: Jinnarak, A., et al. (2016). Sequential injection for determination of gamma-aminobutyric acid based on its effect on second order light scattering of silver nanoparticles. *Journal of Food Composition and Analysis*, 51, 69-75.

ในปี ค.ศ. 2016 Jinnarak และTeerasong ได้สังเคราะห์อนุภาคนาโนที่ดัดแปลงพื้นผิวด้วยซิเตรท ทำให้พื้นผิวของอนุภาคนาโนเงินมีประจุเป็นลบ สามารถจับกับกาบาในสภาวะที่เป็นกรด ที่ pH 3.8 ด้วยแรงดึงดูดระหว่างประจุ อนุภาคนาโนเงินมีการเปลี่ยนแปลงสีจากสีเหลืองเป็นสีเขียว ดังภาพประกอบ 11 ซึ่งความเข้มสีเขียวแปรตามปริมาณของกาบาโดยมีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 100 - 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่า LOD เท่ากับ 57.7 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถตรวจหาปริมาณกาบาในอาหารเสริมได้ ดังภาพประกอบ 12 (Jinnarak & Teerasong, 2016)



ภาพประกอบ 11 แผนผังของการตรวจวัดสีของกาบาโดยอนุภาคนาโนเงินที่มีการดัดแปลงพื้นผิวด้วยซิเตรท

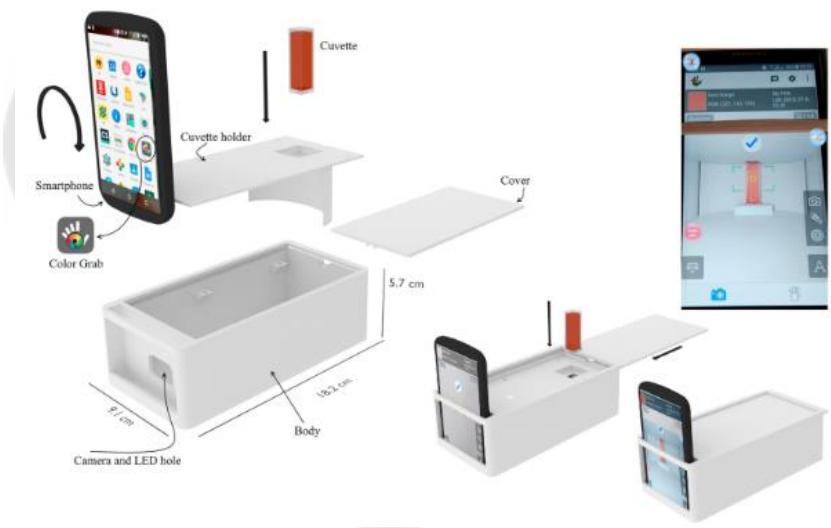


ภาพประกอบ 12 สเปกตรัม SPR และ TEM ของสารละลายอนุภาคนาโนเงินในสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรท (a) ไม่มีกาบา (b) เติมกาบา 300 มิลลิกรัมต่อลิตร

ที่มา: Jinnarak, A., & Teerasong, S. (2016). A novel colorimetric method for detection of gamma-aminobutyric acid based on silver nanoparticles. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 229, 315-320.

5.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้แอปพลิเคชันจากสมาร์ตโฟนในการวิเคราะห์ปริมาณในสารละลายตัวอย่าง

ในปี ค.ศ. 2019 Joao Squissato และ คณะ ได้พัฒนาวิธีการตรวจวัดความเข้มข้นของเหล็ก (Fe^{3+}) ในเชื้อเพลิงไบโอเอทานอลโดยการถ่ายภาพด้วยสมาร์ตโฟน ซึ่งเป็นเทคนิควิเคราะห์ที่ง่ายและรวดเร็ว ผ่านแอปพลิเคชัน “Color Grab” ในการวัดค่า RGB การตรวจวัดปริมาณ Fe^{3+} ขึ้นอยู่กับความสามารถในเกิดปฏิกิริยาเชิงซ้อนกับ ไทโอไซยาเนท ทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนสีแดงของ $Fe(SCN)^{2+}$ โดยความเข้มสีแดงแปรตามปริมาณของ Fe^{3+} โดยมีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้นของ Fe^{3+} 0.5 – 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (R^2 = 0.998) มีค่า LOD เท่ากับ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งสามารถตรวจวัด Fe^{3+} ในเชื้อเพลิงไบโอเอทานอลได้ ดังภาพประกอบ 13 (João et al., 2019)

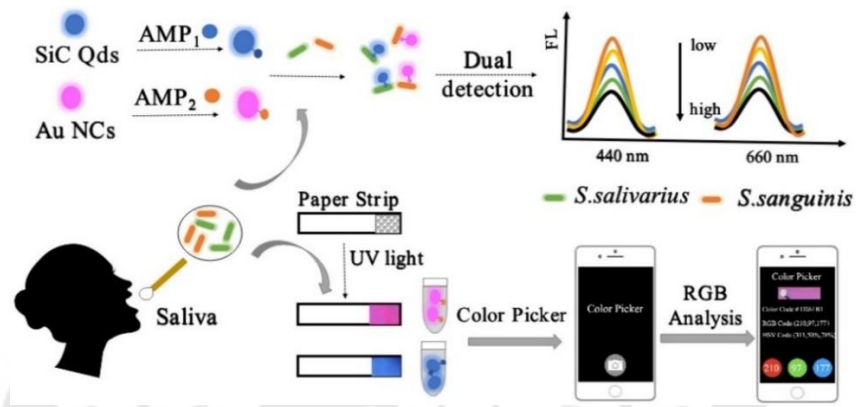


ภาพประกอบ 13 แผนภาพระบบวิเคราะห์ที่ประกอบขึ้นเพื่อให้ได้มาซึ่งภาพดิจิทัลในการหาค่า Fe^{3+} ในเชื้อเพลิงไบโอเอทานอล

ที่มา João, A. F., et al. (2019). Iron (III) determination in bioethanol fuel using a smartphone-based device. *Microchemical Journal*, 146, 1134-1139.

ในปี ค.ศ 2020 Li และคณะ ได้มีการพัฒนาเซ็นเซอร์ที่ใช้สมาร์ตโฟนในการตรวจวัดแบคทีเรียในน้ำลายของช่องปาก ที่สามารถตรวจวัดเปปไทด์ในตัวอย่างจริง โดยเซ็นเซอร์นี้ได้จากการสังเคราะห์ควอนตรัมดอทซิลิกอนคาร์ไบด์ (SiCQds) และนาโนทองคำคลัสเตอร์ (AuNCs)

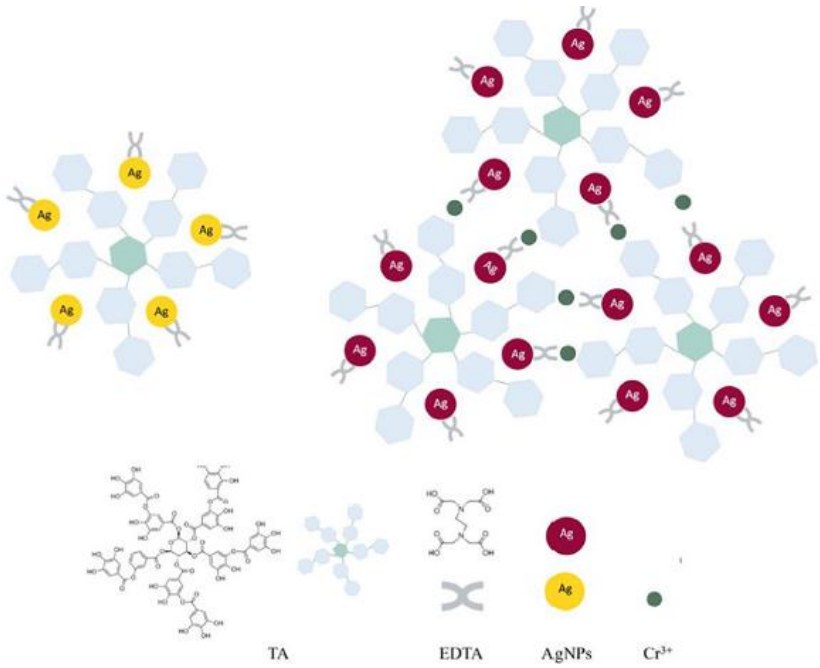
แล้วเคลือบลงบนกระดาษที่ใช้ในการทดสอบ จากนั้นทำการตรวจวัดด้วยสมาร์ตโฟนสามารถ ซึ่งสังเกตการเปลี่ยนสีของกระดาษ เมื่อนำกระดาษที่เปื้อนน้ำลายไปผ่านแสง UV และคำนวณหาอัตราส่วนค่า R และ B โดยค่า B มาจากการเปล่งแสงสีน้ำเงินของควอนตรัมดอทซิลิกอนคาร์ไบด์ และค่า R มาจากการเปล่งแสงสีแดงของนาโนทองคำคลัสเตอร์ ซึ่งสามารถตรวจวัดแบคทีเรียในน้ำลายของช่องปากในช่วง 104 – 106 CFU/มิลลิลิตร และวิธีการนี้สามารถตรวจพบแบคทีเรียในช่องปาก 2 ชนิด คือ *S. salivarius* และ *S. sanguinis* ดังภาพประกอบ 14 (Li et al., 2020)



ภาพประกอบ 14 หลักการแผนผังของการตรวจจับ *S. salivarius* และ *S. sanguinis* พร้อมกันในน้ำลายด้วยแพลตฟอร์มการตรวจโดยใช้สมาร์ตโฟน

ที่มา: Li, X., et al. (2020). A smartphone-based bacteria sensor for rapid and portable identification of forensic saliva sample. *Sensors and Actuators B: Chemical,* 320, 128303.

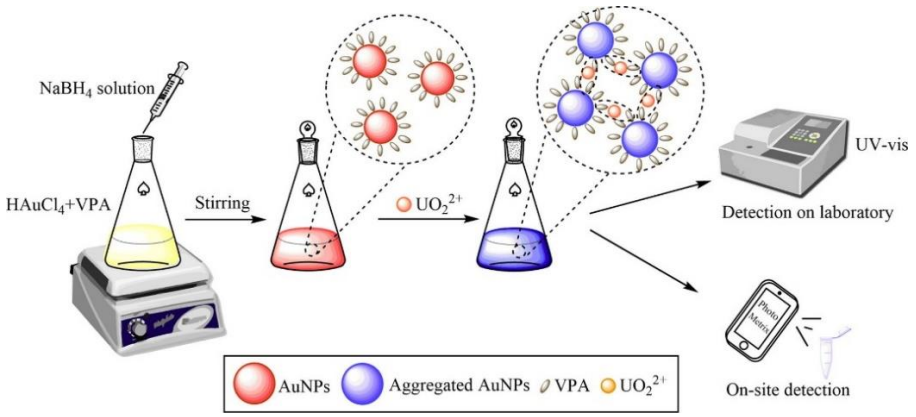
ปี ค.ศ. 2021 Sangsin และคณะได้มีการใช้สมาร์ตโฟนหาปริมาณ Cr^{3+} ในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมที่ง่าย ไม่ยุ่งยากโดยใช้อนุภาคนาโนเงินที่ถูกดัดแปลงพื้นผิวด้วยอีดีทีเอและกรดแทนนิกในการจับกับ Cr^{3+} แล้วเกิดการรวมตัวที่เห็นการเปลี่ยนแปลงสีจากสีเหลืองเป็นสีแดง สามารถประยุกต์ใช้งานกับสมาร์ตโฟนผ่านแอปพลิเคชัน “PhotoMetrix” ถ่ายภาพจะได้ค่า RGB โดยความเข้มของสีแดงแปรตามปริมาณของ Cr^{3+} ให้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงในช่วง 2.0 – 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่า LOD เท่ากับ 1.52 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถหาปริมาณ Cr^{3+} ในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมได้ (Sangsin et al., 2021) ดังภาพประกอบ 15



ภาพประกอบ 15 ภาพประกอบแสดงของกลไกการรวมตัวของ Cr^{3+} ที่เป็นไปได้ของ EDTA-TA-AgNPs

ที่มา: Sangsin, S., Srivilai, P., & Tongraung, P. (2021). Colorimetric detection of Cr^{3+} in dietary supplements using a smartphone based on EDTA and tannic acid-modified silver nanoparticles. *Spectrochimica Acta, Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 246, 119050.

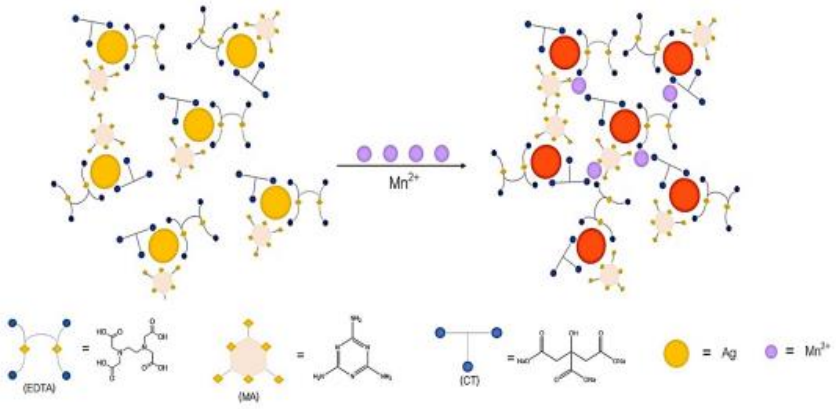
ปี ค.ศ 2022 Zhang และคณะ ได้สังเคราะห์อนุภาคนาโนทองคำที่มีการดัดแปลงพื้นผิวด้วยกรด vinylphosphonic (VPA-AuNPs) เป็นเซ็นเซอร์สำหรับการตรวจจับ UO_2^{2+} ในน้ำ สามารถประยุกต์ใช้งานกับสมาร์ตโฟนผ่านแอปพลิเคชัน “PhotoMetrix” ถ่ายภาพจะได้ค่า RGB ซึ่ง UO_2^{2+}จะเกิดการรวมตัวกับ VPA-AuNPs ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีน้ำเงิน ดังภาพประกอบ 16 โดยความเข้มของสีน้ำเงินแปรตามปริมาณของ UO_2^{2+} ในช่วงความเข้มข้น 4.0 – 20.0 ไมโครโมลาร์ โดยมีค่า LOD เท่ากับ 5.13 ไมโครโมลาร์ วิธีการนี้สามารถใช้งานในการตรวจจับ UO_2^{2+} ในภาคสนามจริงได้ (Zhang et al., 2022)



ภาพประกอบ 16 การเตรียม VPA-AuNPs และกลไกที่เป็นไปได้ของการตรวจจับ UO_2^{2+}

ที่มา: Zhang, L., Huang, D., Zhao, P., Yue, G., Yang, L., & Dan, W. (2022). Colorimetric detection for uranyl ions in water using vinylphosphonic acid functionalized gold nanoparticles based on smartphone. *Spectrochimica Acta, Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 269, 120748

ในปี ค.ศ 2023 Sungwiengwong และคณะ ได้ทำการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินที่ดัดแปงพื้นผิวด้วยอีดีทีเอ ซิเตรท และเมลามีน เพื่อใช้ในการตรวจวัด Mn^{2+} โดยงานวิจัยนี้ได้ประยุกต์ใช้กับสมาร์ตโฟนผ่านแอปพลิเคชัน “PhotoMetrix” ซึ่งการทำงานของแอปพลิเคชัน ทำให้ได้ข้อมูลของการถ่ายภาพเป็นค่า RGB เมื่อเกิดการรวมตัวระหว่างอนุภาคนาโนเงินกับ Mn^{2+} ที่ pH 10 ส่งผลให้สารละลายเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีน้ำตาลอมแดง ดังภาพประกอบ 17 โดยสีน้ำตาลอมแดงแปรตามปริมาณของ Mn^{2+} ให้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 4.0×10^{-5} – 2.0×10^{-4} โมลาร์ มีค่า LOD เท่ากับ 2.7×10^{-5} โมลาร์และวิธีนี้สามารถหาปริมาณ Mn^{2+} ในตัวอย่างน้ำได้ (Sungwienwong et al., 2023)



ภาพประกอบ 17 กลไกการรวมตัวเหนี่ยวนำระหว่าง Mn^{2+} กับ EDTA-CT-MA-AgNPs

ที่มา: Sungwienwong, I., Dankhanob, L., Kerdkok, D., Tongraung, P., & Apiratikul, N. (2023b). Functionalized Silver Nanoparticles for Rapid Detection of Mn^{2+} Employing a Smartphone Platform. *ChemistrySelect*, 8(6).

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการวิจัย

ในการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยได้ดำเนินการตามขั้นตอนดังนี้

1. สังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินที่มีผิวเป็นลบโดยการดัดแปลงพื้นผิวด้วยซิเตรทและอีดีทีเอ

2. พิสูจน์โครงสร้างของอนุภาคนาโนเงินที่มีผิวเป็นลบด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงชนิดแบบอัลตราไวโอเลตและแบบแสงมองเห็น (UV-visible spectrophotometry) กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission Electron Microscope; TEM) และเทคนิคการกระเจิงแสงแบบพลวัต (Dynamic Light Scattering; DLS)

3. ศึกษาความคงตัวของอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์

4. ศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการตรวจวัดกาบา ได้แก่ ความเข้มข้นของบัฟเฟอร์อะซิเตรท (ionic strength) และเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาโดยวิธียูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปีและสมาร์ตโฟน

5. ศึกษาประสิทธิภาพของอนุภาคนาโนเงินที่มีผิวเป็นลบในการตรวจจับกาบา ได้แก่ ความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ (LOD) ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์เชิงปริมาณได้ (LOQ) ความแม่นและความเที่ยงโดยยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปีและสมาร์ตโฟน

6. ศึกษาการรบกวนของไอออนที่เจือปนในเมล็ดข้าวที่ส่งผลต่อการวิเคราะห์กาบา เช่น K^{+}, Mn^{2+}, Ca^{2+}, Fe^{3+}และ Zn^{2+} โดยใช้สมาร์ตโฟน

7. ประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนเงินที่มีพื้นผิวเป็นลบเพื่อเป็นเซนเซอร์ทางเคมีสำหรับตรวจวัดปริมาณกาบาในตัวอย่างเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ กข 6 โดยใช้สมาร์ตโฟน

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1. เครื่องยูวี-วิซิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ รุ่น UV-2401PC จากบริษัท Shimadzu

2. เครื่องชั่งอย่างละเอียด 4 ตำแหน่ง รุ่น NewClassic MF จากบริษัท Mettler Toledo

3. เครื่อง Transmission Electron Microscope (TEM) ยี่ห้อ FEI รุ่น TECNAI G2 S-Twin

4. เครื่อง Dynamic Light Scattering (DLS) รุ่น Zetasizer Ver.7.04 จากบริษัท Malvern

5. กล้องดิจิตอลจากสมาร์ตโฟน ระบบ android รุ่น VIVO V2043 โดยภาพแต่ละภาพจะถูกจับด้วย ROI 32 × 32pixel ในมุมด้านข้างโดยมีความยาวโฟกัส 6 เซนติเมตรในกล่องสตูดิโอพื้นหลังสีขาว ขนาด 22.6 × 23 ×40 เซนติเมตร ใช้หลอดไฟ LED เป็นแหล่งกำเนิดแสง ซึ่งห่างจากตัวอย่าง 20 เซนติเมตร

สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

1. ซิลเวอร์ไนเตรต ($AgNO_3$) จากบริษัท Carlo Erba
2. โซเดียมซิเตรทไดไฮเดรต ($Na_3C_6H_5O_7.2H_2O$) จากบริษัท Carlo Erba
3. กรดเอทิลีนไดเอมีนเตตระแอซีติก ($C_{10}H_{16}N_2O_8$) จากบริษัท Merck
4. โซเดียมโบโรไฮไดรด์ ($NaBH_4$) จากบริษัท Sigma Aldrich
5. กรดอะซิติก (CH_3COOH) จากบริษัท QRëC New Zealand
6. กรดไฮโดรคลอริก (HCl) จากบริษัท QRëC New Zealand
7. โซเดียมอะซิเตรท (CH_3COONa) จากบริษัท QRëC New Zealand
8. แกมม่าอะมิโนบิวทีริกแอซิด ($C_4H_9NO_2$) จากบริษัท Fisher Scientific
9. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) จากบริษัท Ajax Finechem
10. โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) จากบริษัท Fisher Scientific
11. แมกนิเซียม (II) เปอร์คลอเรต ไฮเดรต จากบริษัท Sigma Aldrich
12. แคลเซียมคลอไรด์ จากบริษัท Ajax Finechem
13. ไอร์รอน (III) เปอร์คลอเรต ไฮเดรต จากบริษัท Sigma Aldrich
14. ซิงค์ (II) เปอร์คลอเรต เฮกซะไฮเดรต จากบริษัท Sigma Aldrich
15. เมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105และพันธุ์ กข 6

วิธีดำเนินการทดลอง

1. การสังเคราะห์อนุภาคนาโนที่ถูกดัดแปลงพื้นผิวด้วยซิเตรทและอีดีทีเอได้เป็น CT-AgNPs และEDTA-AgNPs

1.1 เตรียมสารละลาย $AgNO_3$ เข้มข้น 0.64 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 250.00 มิลลิลิตร

1.2 เตรียมสารละลายซิเตรท เข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100.00 มิลลิลิตร

1.3 เตรียมสารละลาย EDTA เข้มข้น 7.50 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100.00 มิลลิลิตร

1.4 เตรียมสารละลาย $NaBH_4$ เข้มข้น 0.10 ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาตร 100.00 มิลลิลิตร

1.5 นำสารละลาย $AgNO_3$ ปริมาตร 39.00 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปกรวย จากนั้นเติมสารละลายซิเตรทปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร และตั้งไว้บนเครื่องกวนสารเป็นเวลา 20 นาที

1.6 จากนั้นเติมสารละลาย $NaBH_4$ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร ลงในสารละลายข้อ 1.5 และกวนสารละลายต่ออีก 1 ชั่วโมง จะได้สารละลาย CT-AgNPs สีเหลืองใส ตั้งทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง ก่อนนำมาวิเคราะห์ และเพื่อรักษาความเสถียรของสารละลาย AgNPs ควรเก็บไว้ในที่มืดอุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส (°C)

1.7 ทำการทดลองข้อ 1.1 - 1.6 ซ้ำโดยเปลี่ยนจากสารละลายซิเตรท เป็นสารละลายอีดีทีเอ 7.50 มิลลิโมลาร์ เพื่อทำการสังเคราะห์ EDTA-AgNPs

2. สังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินแบบ co-stabilized ด้วยซิเตรทและอีดีทีเอได้เป็น CT-EDTA-AgNPs

2.1 เตรียมสารละลาย $AgNO_3$ เข้มข้น 0.64 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100.00 มิลลิลิตร

2.2 เตรียมสารละลายซิเตรท เข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100.00 มิลลิลิตร

2.3 เตรียมสารละลายอีดีทีเอ เข้มข้น 7.50 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100.00 มิลลิลิตร

2.4 เตรียมสารละลาย $NaBH_4$ เข้มข้น 0.10 ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาตร 100.00 มิลลิลิตร

2.5 เติมสารละลาย $AgNO_3$ ปริมาตร 39.00 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปกรวย จากนั้นเติมสารละลายซิเตรท ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตรและอีดีทีเอ ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร ตั้งไว้บนเครื่องกวนสารเป็นเวลา 20 นาที

2.6 เติมสารละลาย $NaBH_4$ ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร ลงในสารละลายข้อ 2.5 และตั้งไว้บนเครื่องกวนสารเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

2.7 เก็บสารละลายอนุภาคนาโนเงินไว้ในที่มืด อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส (°C)

3. พิสูจน์โครงสร้างของอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ได้

3.1 พิสูจน์โครงสร้างด้านการกระจายตัวและขนาดของอนุภาคนาโนเงินในสารละลายที่สังเคราะห์ได้ โดยใช้สารละลายอนุภาคนาโนเงินเจือจางหยดลงบนแผ่น grid และวิเคราะห์ด้วยภาพถ่ายจากเทคนิค TEM และเทคนิค DLS

3.2 วัดค่าการดูดกลืนแสง เพื่อตรวจสอบการเกิดปรากฏการณ์เซอร์เฟสพลาสมอนเรโซแนนซ์ของอนุภาคนาโนเงิน โดยทำการวัดความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) ของสารละลายอนุภาคนาโนเงิน ด้วยยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปีโดยใช้น้ำดีไอออไนซ์ (deionized

water) เป็น blank และสารละลายของอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์เป็นสารที่ต้องการวิเคราะห์ กำหนดช่วงความยาวคลื่นที่ทำการตรวจวัดอยู่ที่ 300 - 700 นาโนเมตร

4. ศึกษาความคงตัวของอนุภาคนาโน

4.1 นำอนุภาคนาโนเงินทั้ง 3 ชนิด (CT-AgNPs EDTA-AgNPs และCT-EDTA-AgNPs) ที่สังเคราะห์ได้ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 300 - 700 นาโนเมตร

4.2 ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคนาโนเงินในข้อ 4.1 ซ้ำ ในทุก ๆ 2 วัน เป็นระยะเวลา 30 วัน โดยใช้สารละลาย CT-AgNPs EDTA-AgNPs และCT-EDTA-AgNPs ที่สังเคราะห์ขึ้นในครั้งเดียวกันตลอดการทดลอง

4.3 เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้แต่ละครั้งตลอดระยะเวลา 30 วัน

5. ศึกษาความเข้มข้นของบัฟเฟอร์อะซิเตรท (ionic strength) และเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาโดยวิธียูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปีหรือสมาร์ตโฟน

5.1 ศึกษาความเข้มข้นของบัฟเฟอร์อะซิเตรท (ionic strength) ที่เหมาะสมในการจับกับกาบาโดยวิธียูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปีและสมาร์ตโฟน

5.1.1 เตรียมสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรทความเข้มข้น 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 และ 1.0 โมลาร์ ที่ pH 3.8

5.1.2 เตรียมสารละลายมาตรฐานกาบาความเข้มข้น 50, 250 และ 400 มิลลิกรัมต่อลิตร ในบัฟเฟอร์อะซิเตรท ที่ pH 3.8 ของทุกความเข้มข้นในข้อ 5.1.1 โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานกาบาตามที่คำนวณไว้ ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25.00 มิลลิลิตร ขณะที่ blank ไม่มีกาบา ตามด้วยบัฟเฟอร์อะซิเตรทที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 3.00 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำดีไอออไนซ์ จนครบ 25.00 มิลลิลิตร

5.1.3 เตรียมสารละลาย blank ในบัฟเฟอร์อะซิเตรท ที่ pH 3.8 ของทุกความเข้มข้นในในข้อ 5.1.2 โดยปิเปตบัฟเฟอร์ทุกความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 3.00 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำดีไอออไนซ์ จนครบ 25.00 มิลลิลิตร

5.1.4 ผสมสารละลาย CT-AgNPs ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตร กับสารละลาย blank ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตร ที่เตรียมได้ในข้อ 5.1.3 และผสมสารละลาย CT-AgNPs ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตร กับสารละลายมาตรฐานกาบาที่เตรียมได้ในข้อ 5.1.2 ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตร

5.1.5 เขย่าสารละลายที่ได้ในข้อ 5.1.4 แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 393 นาโนเมตรและถ่ายภาพด้วยสมาร์ตโฟนระบบ android รุ่น VIVO V2043 ใน

กล่องสตูดิโอพื้นหลังสีขาว ขนาด 22.6 × 23 × 40 เซนติเมตร มีหลอดไฟ LED เป็นแหล่งกำเนิดแสง ซึ่งห่างจากตัวอย่าง 20 เซนติเมตร ผ่านแอปพลิเคชัน PhotoMetrix

5.1.6 นำค่าการดูดกลืนคลื่นแสง (A) และความเข้มสีเขียวที่ได้ไปพล็อตเทียบกับทุกความเข้มข้นของบัฟเฟอร์อะซิเตรท

5.2 ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการตรวจหากาบาโดยใช้วิธียูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี

5.2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานกาบาความเข้มข้น 0, 100 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตรในบัฟเฟอร์อะซิเตรท ความเข้มข้น 0.70 โมลาร์ ที่ pH 3.8

5.2.2 ผสมสารละลายมาตรฐานกาบาที่เตรียมไว้ในข้อ 5.2.1 ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตร กับสารละลาย CT-AgNPs ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตร

5.2.3 นำสารละลายที่เตรียมได้ในข้อ 5.2.2 ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 393 นาโนเมตร เป็นเวลา 10 นาที โดยวัดค่าทุก ๆ 30 วินาที

5.2.4 นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปพล็อตกราฟเทียบกับเวลาที่ใช้ศึกษาของแต่ละความเข้มข้นกาบา

6. ศึกษาประสิทธิภาพของอนุภาคนาโนเงินที่มีผิวเป็นลบในการตรวจจับกาบา ได้แก่ ความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ (LOD) ความแม่นและความเที่ยงโดยวิธียูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปีและสมาร์ตโฟน

6.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานกาบาความเข้มข้นในช่วง 0 - 500 มิลลิกรัมต่อลิตรในบัฟเฟอร์อะซิเตรทความเข้มข้น 0.70 โมลาร์ ที่ pH 3.8

6.2 ผสมสารละลาย CT-AgNPs ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตรกับสารละลายมาตรฐานกาบาที่เตรียมไว้ในข้อ 6.1 ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตร

6.3 ทิ้งสารละลายในข้อ 6.2 ไว้ 8 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 300 – 700 นาโนเมตรและถ่ายภาพด้วยสมาร์ตโฟนระบบ android รุ่น VIVO V2043 ผ่านแอปพลิเคชัน PhotoMetrix

6.4 สร้างกราฟของผลต่างค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่นสูงสุด (A_0-A) กับความเข้มข้นของกาบา

A_0 คือค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสารละลายผสมระหว่าง CT-AgNPs กับสารละลายมาตรฐานกาบาที่ความเข้มข้น 0 มิลลิกรัมต่อลิตร (blank)

A คือค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสารละลายผสมระหว่าง CT-AgNPs กับสารละลายมาตรฐานกาบาในช่วงความเข้มข้น 50 – 500 มิลลิกรัมต่อลิตร

6.5 สร้างกราฟของค่าความเข้มสีเขียวกับความเข้มข้นของกาบา โดย blank คือค่าความเข้มสีเขียวของสารละลายผสมที่ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานกาบา 0 มิลลิกรัมต่อลิตร

6.6 คำนวณค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ (LOD) และค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์เชิงปริมาณได้ (LOQ) โดยใช้ข้อมูลจากกราฟมาตรฐาน คำนวณได้จากสูตร

$$LOD = \frac{3SD}{slope}$$

$$LOQ = \frac{10SD}{slope}$$

SD คือค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการวัด blank 5 ครั้ง

7. ศึกษาการรบกวนของไอออนที่เจือปนในเมล็ดข้าวที่ส่งผลต่อการวิเคราะห์กาบาอย่างเช่น K^+, Mn^{2+}, Ca^{2+}, Fe^{3+}, Zn^{2+} โดยใช้สมาร์ตโฟน

7.1 ผสมสารละลาย CT-AgNPs ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตรกับสารละลายมาตรฐานกาบาเข้มข้น 250 มิลลิกรัมต่อลิตรในบัฟเฟอร์อะซิเตรทที่ความเข้มข้น 0.70 โมลาร์ ที่ pH 3.8 ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตร

7.2 ทิ้งไว้ 8 นาที นำสารละลายผสมไปตรวจหาด้วยแอปพลิเคชัน PhotoMetrix

7.3 เติมสารละลายไอออนบวกของ K^+, Mn^{2+}, Ca^{2+}, Fe^{3+} และ Zn^{2+} ความเข้มข้น 50, 100 และ250 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตรลงในสารละลาย CT-AgNPs ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 8 นาที และถ่ายภาพด้วยสมาร์ตโฟนระบบ android รุ่น VIVO V2043 ผ่านแอปพลิเคชัน PhotoMetrix

7.4 เปรียบเทียบค่าความเข้มแสงสีเขียวที่ได้ทั้งก่อนและหลังการเติมสารละลายไอออนบวกชนิดต่าง ๆ

8. ประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนเงินที่มีพื้นผิวเป็นลบเพื่อเป็นเซนเซอร์ทางเคมี สำหรับตรวจวัดปริมาณของกาบาในตัวอย่างเมล็ดข้าวโดยใช้สมาร์ตโฟน

8.1 การเตรียมตัวอย่างกาบาจากเมล็ดข้าว

8.1.1 สกัดกาบาที่ได้จากเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์กข 6 ที่ผ่านการแช่น้ำเป็นเวลา 72 ชั่วโมง สายพันธุ์ละ 3 ตัวอย่างโดยนำผงข้าวที่บดละเอียดมา 0.50 กรัม เติมสารละลายเอทานอล 80% โดยปริมาตร ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตร และเขย่าเป็นเวลา 1 นาที

8.1.2 นำสารละลายที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงที่ 13,500 rpm เป็นเวลา 10 นาที แล้วจึงเก็บเฉพาะสารละลายใสและสกัดซ้ำอีก 1 ครั้งด้วยสารละลายเอทานอล 80% โดยปริมาตร

8.1.3 นำสารละลายที่สกัดได้ไปใส่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 80 °C จนกระทั่งเอทานอลระเหยหมด แล้วเติมน้ำดีไอออไนซ์ ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตร

8.2 ประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนเงินที่มีพื้นผิวเป็นลบเพื่อเป็นเซนเซอร์ทางเคมี สำหรับตรวจวัดปริมาณของกาบาในตัวอย่างเมล็ดข้าวโดยใช้สมาร์ตโฟน

8.2.1 เตรียมกราฟมาตรฐานกาบาที่เป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 50 – 500 มิลลิกรัมต่อลิตร

8.2.2 ปิเปตสารละลาย CT-AgNPs ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตร ลงในขวดไวแอล

8.2.3 ปิเปตสารละลายตัวอย่างข้าว ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตร เติมลงในสารละลาย CT-AgNPs ในข้อ 8.2.2

8.2.4 เติมสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตรทความเข้มข้น 0.7 โมลาร์ ที่ pH 3.8 ปริมาตร 0.30 มิลลิลิตร ลงในสารละลายในข้อ 8.2.3

8.2.5 เขย่าให้เข้ากัน แล้วทิ้งไว้ 8 นาที แล้วถ่ายภาพด้วยสมาร์ตโฟนระบบ android รุ่น VIVO V2043 ผ่านแอปพลิเคชัน PhotoMetrix

บทที่ 4
ผลการทดลอง

ในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ดำเนินการตามขั้นตอนของวิธีการดำเนินการวิจัยที่ได้กำหนดไว้ดังนี้

1. สังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินที่มีผิวเป็นลบโดยการดัดแปลงพื้นผิวด้วยซิเตรทและอีดีทีเอ

2. พิสูจน์โครงสร้างของอนุภาคนาโนเงินที่มีผิวเป็นลบด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงชนิดแบบอัลตราไวโอเลตและแบบแสงมองเห็น (UV-visible spectrophotometry) กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission Electron Microscope; TEM) และเทคนิคการกระเจิงแสงแบบพลวัต (Dynamic Light Scattering; DLS)

3. ศึกษาความคงตัวของอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ได้

4. ศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการตรวจวัดกาบา ได้แก่ ความเข้มข้นของบัฟเฟอร์ อะซิเตรท (ionic strength) และเวลาในการเกิดปฏิกิริยาโดยวิธียูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปีและสมาร์ตโฟน

5. ศึกษาประสิทธิภาพของอนุภาคนาโนเงินที่มีผิวเป็นลบในการตรวจจับกาบา ได้แก่ ความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ (LOD) ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์เชิงปริมาณได้ (LOQ) ความแม่นและความเที่ยงโดยวิธียูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปีและสมาร์ตโฟน

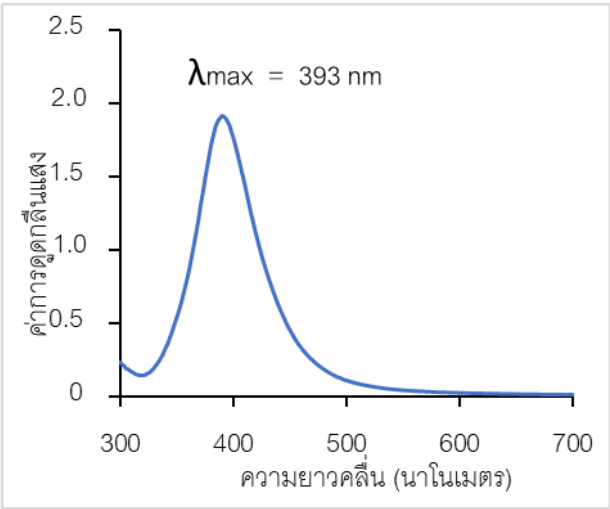
6. ศึกษาการรบกวนของไอออนที่เจือปนในเมล็ดข้าวที่ส่งผลต่อการวิเคราะห์กาบา เช่น K^{+}, Mn^{2+}, Ca^{2+}, Fe^{3+} และ Zn^{2+} โดยใช้สมาร์ตโฟน

7. ประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนเงินที่มีพื้นผิวเป็นลบเพื่อเป็นเซนเซอร์ทางเคมีสำหรับตรวจวัดปริมาณกาบาในตัวอย่างเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์กข 6 โดยใช้สมาร์ตโฟน

1. การสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินที่มีผิวเป็นลบโดยการดัดแปลงพื้นผิวด้วยซิเตรทและอีดีทีเอ

1.1 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินที่มีผิวเป็นลบโดยการดัดแปลงพื้นผิวด้วยซิเตรทและอีดีทีเอ

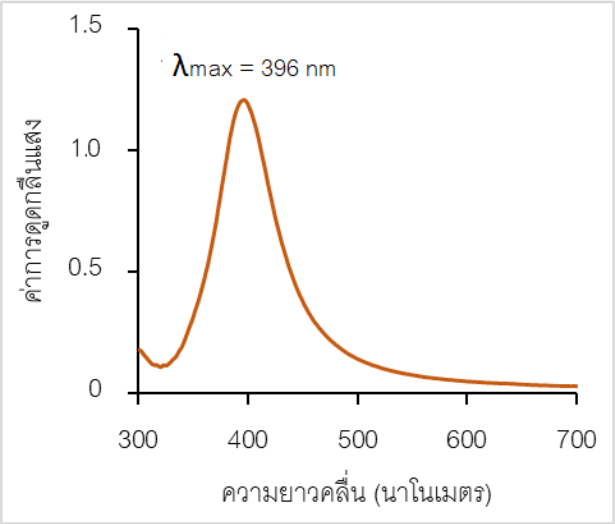
อนุภาคนาโนเงินที่ถูกดัดแปลงพื้นผิวด้วยซิเตรท (CT-AgNPs) สามารถสังเคราะห์ได้จากวิธีทางเคมี โดยการรีดิวซ์ Ag^+ ในสารละลาย $AgNO_3$ ด้วยโซเดียมโบโรไฮไดรด์ให้เปลี่ยนเป็นซิลเวอร์อะตอม (Ag) และใช้ซิเตรทเป็นตัวดัดแปลงพื้นผิว เพื่อเพิ่มความเสถียรของอนุภาคนาโนเงินในสารละลาย จากผลการทดลองพบว่า CT-AgNPs ที่สังเคราะห์ได้มีลักษณะของสารละลายเป็นสีเหลือง ดังภาพประกอบ 18 (ก) ซึ่งสอดคล้องกับผลการพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี ซึ่งมีความยาวคลื่นที่ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) ในช่วงเซอร์เฟสพลาสมอนเรโซเนนซ์เท่ากับ 393 นาโนเมตร ดังภาพประกอบ 18 (ข)



(ก) (ข)

ภาพประกอบ 18 (ก) ลักษณะสีของสารละลาย CT-AgNPs ที่สังเคราะห์ได้ และ (ข) สเปกตรัมในช่วง 300 – 700 นาโนเมตรของ CT-AgNPs

จากการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินที่ถูกดัดแปลงพื้นผิวด้วยอีดีทีเอ (EDTA-AgNPs) พบว่า EDTA-AgNPs ที่สังเคราะห์ได้สารละลายสีเหลือง ดังภาพประกอบ 19 (ก) โดยมีความยาวคลื่นที่ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λmax) ในช่วงเซอร์เฟสพลาสมอนเรโซเนนซ์เท่ากับ 396 นาโนเมตร ดังภาพประกอบ 19 (ข)

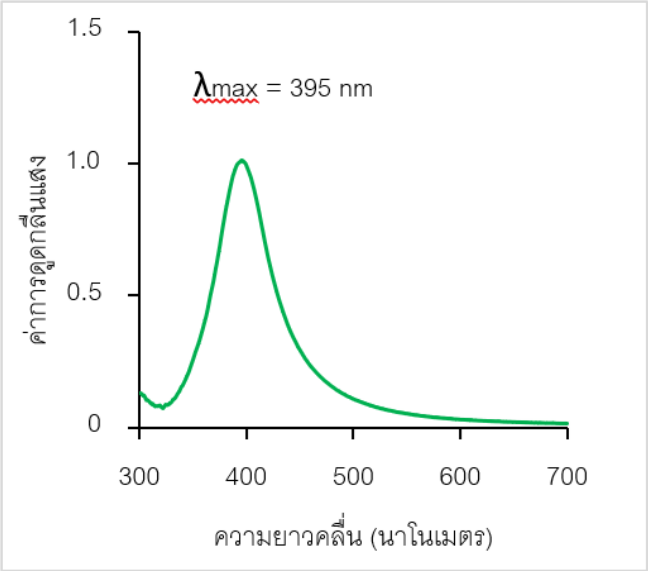


(ก) (ข)

ภาพประกอบ 19 (ก) ลักษณะสีของสารละลาย EDTA-AgNPs (ข) สเปกตรัมในช่วง 300 – 700 นาโนเมตรของ EDTA-AgNPs

1.2 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินที่ถูกดัดแปลงพื้นผิวแบบ co-stabilized ด้วยซิเตรทและอีดีทีเอ ได้เป็น CT-EDTA-AgNPs

การสังเคราะห์ CT-EDTA-AgNPs สามารถสังเคราะห์ได้จากปฏิกิริยาการรีดิวซ์ Ag^+ ในสารละลาย $AgNO_3$ ด้วยโซเดียมโบโรไฮไดรด์ เพื่อเปลี่ยนเป็นซิลเวอร์อะตอม โดยใช้ซิเตรทและอีดีทีเอ ทำร่วมกันในลักษณะ co-stabilized ในการดัดแปลงพื้นผิวของอนุภาคนาโนเงินพบว่า CT-EDTA-AgNPs ที่สังเคราะห์ได้มีลักษณะเป็นสารละลายสีเหลือง ดังภาพประกอบ 20 (ก) สอดคล้องกับความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) ในช่วงเซอร์เฟสพลาสมอนเรโซเนนซ์เท่ากับ 395 นาโนเมตร ดังภาพประกอบ 20 (ข)

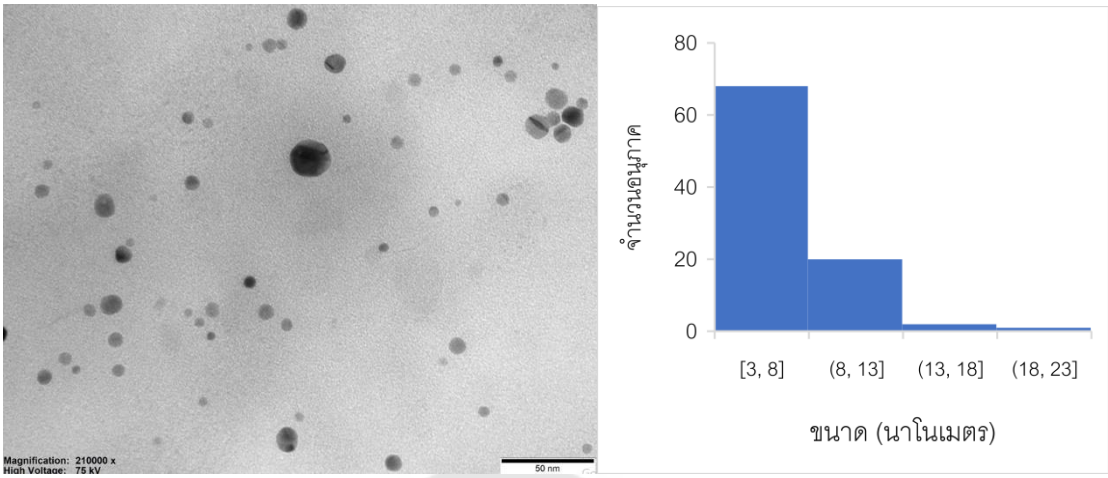


(ก) (ข)

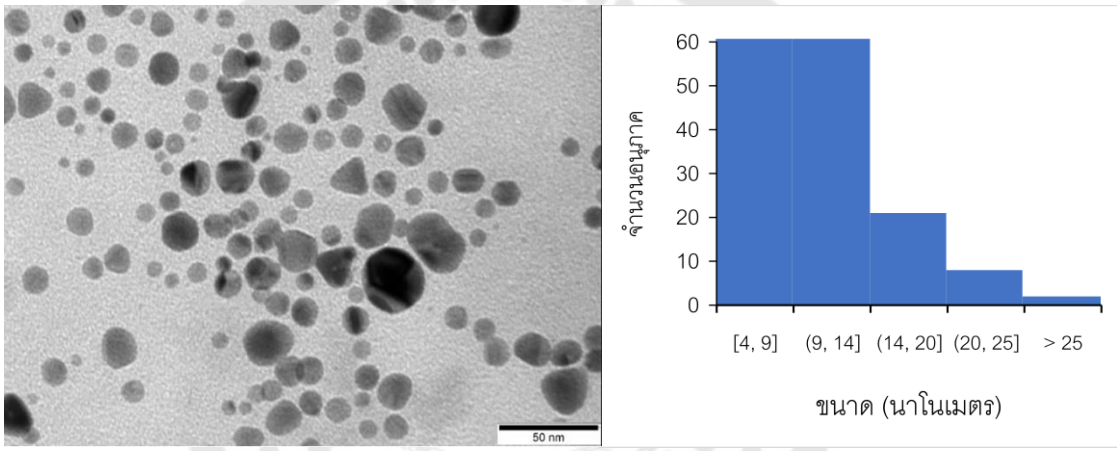
ภาพประกอบ 20 (ก) ลักษณะสีของสารละลาย CT-EDTA-AgNPs ที่สังเคราะห์ได้ และ (ข) สเปกตรัมในช่วง 300 – 700 นาโนเมตร

2. การพิสูจน์โครงสร้างของอนุภาคนาโนเงินที่มีผิวเป็นลบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission Electron Microscope; TEM) **และเทคนิคการกระเจิงแสงแบบพลวัต** (Dynamic light Scattering; DLS)

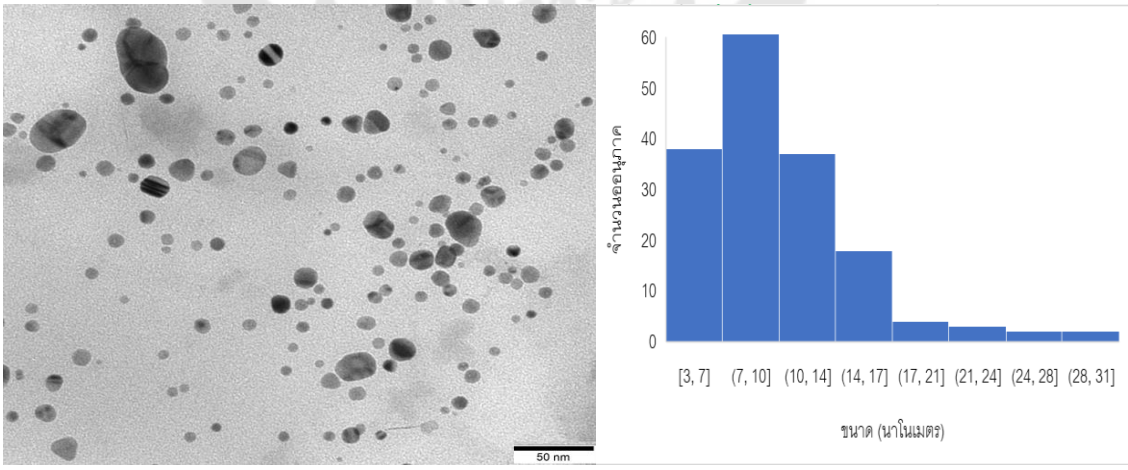
เมื่อนำอนุภาคนาโนเงินทั้ง 3 ชนิดมาวิเคราะห์หาขนาดและการกระจายตัวด้วยภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission Electron Microscope; TEM) และเทคนิคการกระเจิงแสงแบบพลวัต (Dynamic light Scattering; DLS) พบว่า อนุภาคนาโนเงินทั้ง 3 ชนิด (CT-AgNPs , EDTA-AgNPs และCT-EDTA-AgNPs) มีรูปร่างเป็นทรงกลมและมีขนาดเฉลี่ยในช่วง 3 – 30 นาโนเมตร ดังภาพประกอบ 21 (ก) (ข) และ (ค) เมื่อนำอนุภาคนาโนเงินมาวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่านพบว่า มีการกระจายตัวได้เป็นอย่างดีในสารละลาย ซึ่งสอดคล้องการค่า Zeta potential มีค่าเท่ากับ -33.90 mV, -38.00 mV และ -39.00 mV ดังภาพประกอบ 22 (ก) (ข) และ (ค)



(ก)



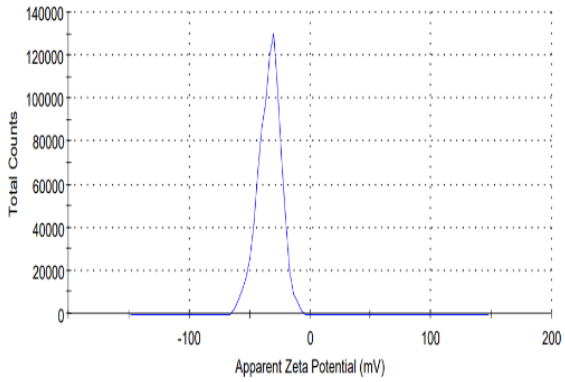
(ข)



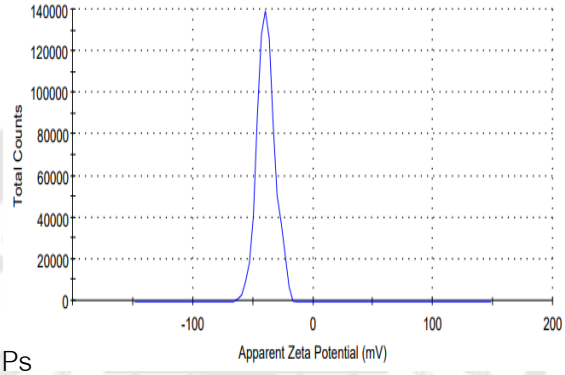
(ค)

ภาพประกอบ 21 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านและขนาดของ (ก) CT-EDTA-AgNPs (ข) EDTA-AgNPs และ (ค) CT-EDTA-AgNPs

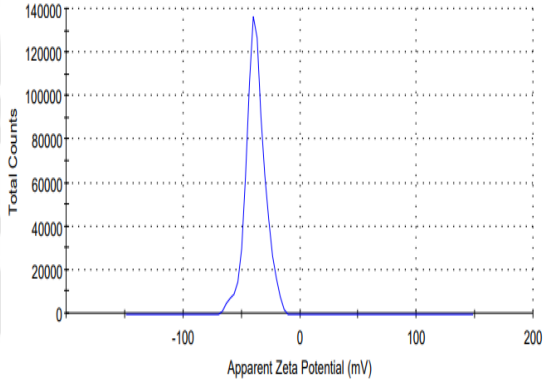
(ก) CT-AgNPs



(ข) EDTA-AgNPs



(ค) CT-EDTA-AgNPs

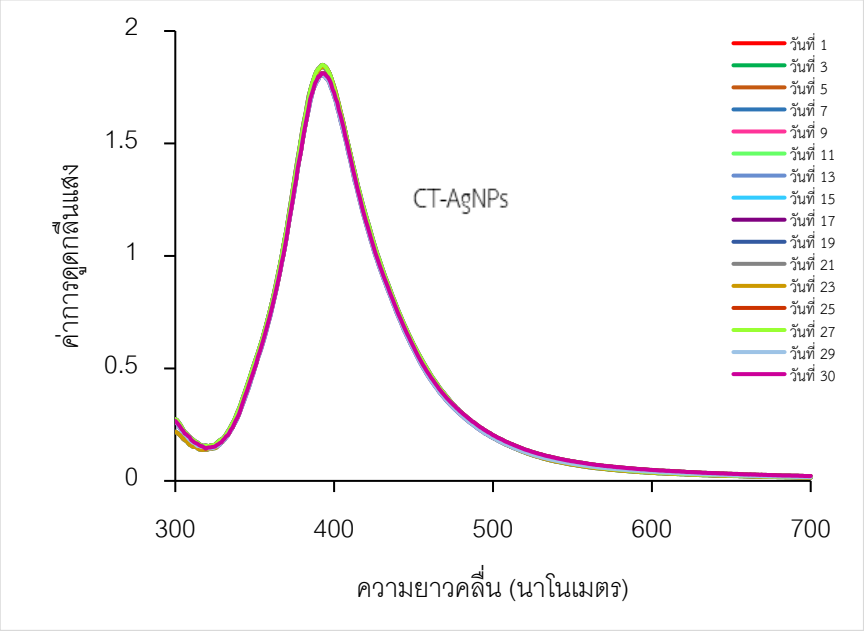


ภาพประกอบ 22 แสดงการกระจายตัวจากเทคนิคการกระเจิงแสงแบบพลวัต (DLS) ของ (ก) CT-AgNPs (ข) EDTA-AgNPs (ค) CT-EDTA-AgNPs

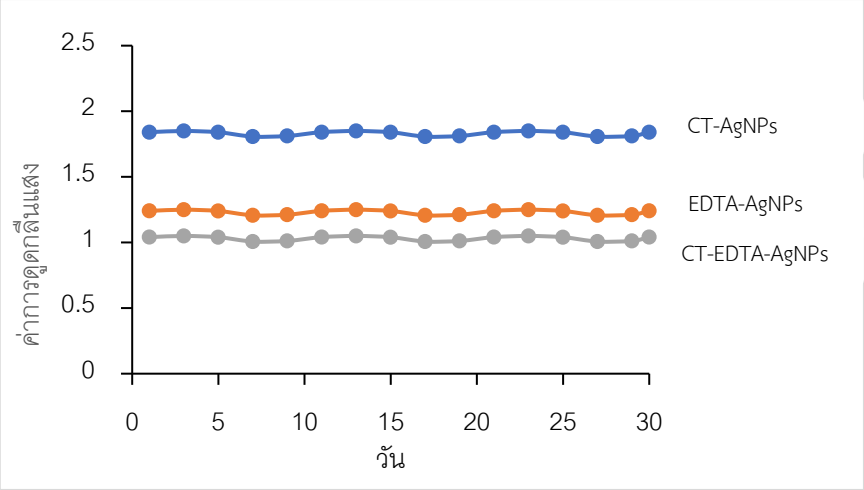
3. การศึกษาความคงตัวของอนุภาคนาโนเงินทั้ง 3 ชนิดที่สังเคราะห์ได้ CT-AgNPs, EDTA-AgNPs และ CT-EDTA-AgNPs

ในการศึกษาการคงตัวของอนุภาคนาโนเงิน CT-AgNPs ที่สังเคราะห์ขึ้น โดยทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคนาโนเงินดังกล่าวที่ความยาวคลื่น 300 - 700 นาโนเมตร ในทุก ๆ 2 วันเป็นระยะเวลา 30 วัน โดยพบว่าค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ในแต่ละครั้งแตกต่างกันอย่างไม่มี

นัยสำคัญ ดังภาพประกอบ 23 แสดงให้เห็นว่าอนุภาคนาโนเงินทั้ง 3 ชนิด CT-AgNPs, EDTA-AgNPs และ CT-EDTA-AgNPs มีความเสถียรมากกว่า 1 เดือน



(ก)



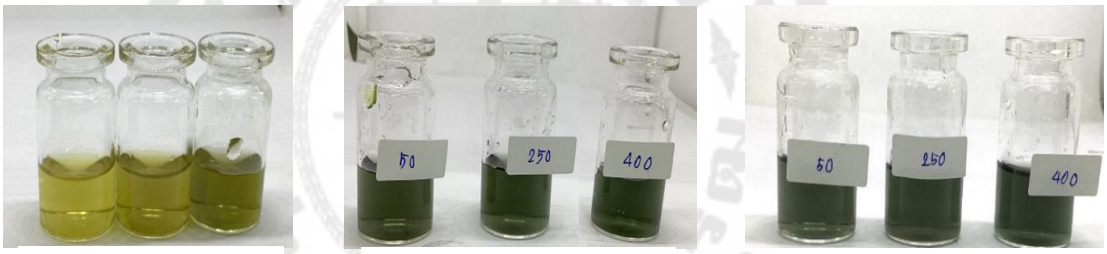
(ข)

ภาพประกอบ 23 (ก) สเปกตรัมของ CT-AgNPs และ(ข) ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 393 นาโนเมตรของอนุภาคนาโนเงินทั้ง 3 ชนิดที่วัดได้ภายในระยะเวลา 30 วัน

4. การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการตรวจวัดกาบาได้แก่ ความเข้มข้นของบัฟเฟอร์อะซิเตรท (ionic strength) และเวลาในการเกิดปฏิกิริยาโดยยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปีและสมาร์ตโฟน

4.1 การศึกษาความเข้มข้นของบัฟเฟอร์อะซิเตรท (ionic strength) ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปีและเทคนิคสมาร์ตโฟน

สำหรับ pH ที่เหมาะสมในการตรวจวัดกาบาถูกศึกษาโดย Jinnarak และคณะ (Jinnarak & Teerasong, 2016) ซึ่งใช้บัฟเฟอร์อะซิเตรท ที่ pH 3.8 งานวิจัยนี้จึงใช้บัฟเฟอร์อะซิเตรท ที่ pH 3.8 กับอนุภาคนาโนเงินทั้ง 3 ชนิดที่ความเข้มข้นของกาบา 50 250 และ400 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีเพียง CT-AgNPs ที่ให้ความเข้มของสีเขียวที่แตกต่างกันแปรตามปริมาณกาบา ดังภาพประกอบ 24 (ก) ในขณะที่ EDTA-AgNPs และ CT-EDTA-AgNPs ให้ความเข้มสีเขียวเท่ากัน ไม่สามารถหาปริมาณกาบาได้ เป็นผลมาจากแรงดึงดูดระหว่างประจุลบบนผิวของอนุภาคนาโนเงินกับโปรตอนที่อยู่ในบัฟเฟอร์เกิดการรวมตัวกัน ดังภาพประกอบ 24 (ข) และ (ค)

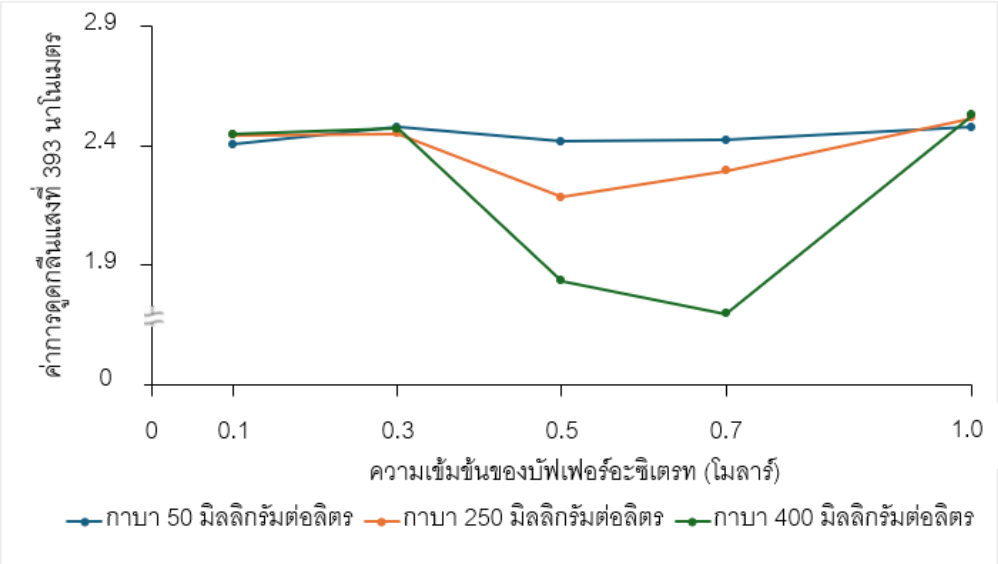


50 250 400 (ก) 50 250 400 (ข) 50 250 400 (ค)

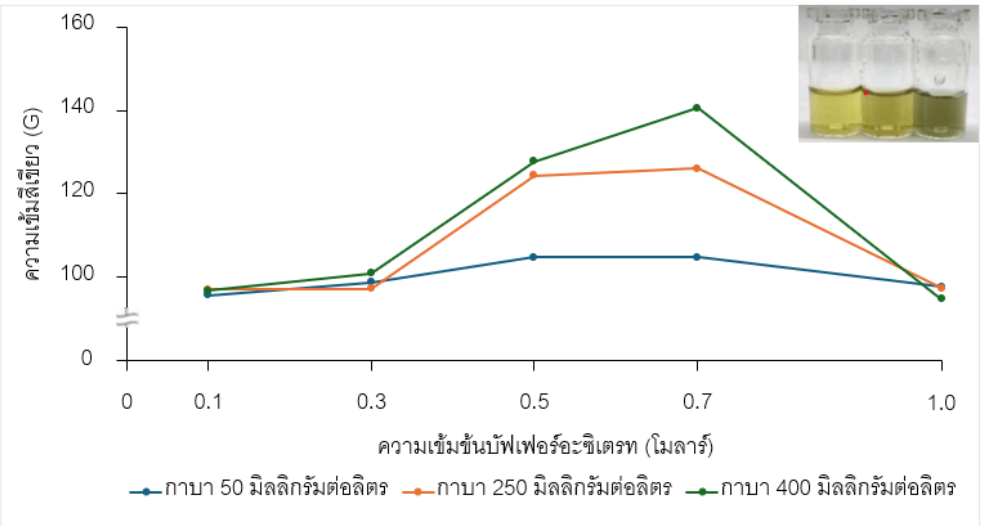
ภาพประกอบ 24 ลักษณะสีของสารละลายที่เติมกาบาเข้มข้น 50 250 และ 400 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก) CT-AgNPs (ข) EDTA-AgNPs (ค) CT-EDTA-AgNPs

เมื่อนำอนุภาคนาโนเงินที่มีผิวเป็นลบ (CT-AgNPs) ไปตรวจจับกับกาบาความเข้มข้น 50 250 และ 400 มิลลิกรัมต่อลิตรในบัฟเฟอร์อะซิเตรทที่ความเข้มข้น 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 และ1.0 โมลาร์ ที่ pH 3.8 พบว่าที่ความเข้มข้น 0.1, 0.3 และ 1.0 โมลาร์ แรงดึงดูดระหว่างประจุบวกของกาบากับประจุลบบนผิวของ CT-AgNPs ไม่สามารถแยกความแรงแปรตามปริมาณกาบาที่มีได้ บ่งชี้ถึงความแรงของไอออนในสารละลายไม่เหมาะสม แต่ที่ความเข้มข้น 0.5 และ 0.7 โมลาร์ ความแรงของไอออนในสารละลายเหมาะสม ทำให้แรงดึงดูดของประจุบวกและประจุลบแปรตามปริมาณกาบาได้ ถ้ามีปริมาณกาบาน้อยจะเกิดการเติมโปรตอนน้อย ประจุบวกของกาบาจะน้อยทำให้แรงดึงดูดอ่อน การรวมตัวก็จะเกิดน้อย ดังนั้นความเข้มสีเขียวจะเพิ่มน้อยหรือค่าการ

ดูดกลืนคลื่นแสงของ SPR ที่ 393 นาโนเมตรจะลดลงน้อย ถ้าปริมาณกาบาเพิ่มขึ้นเป็น 250 และ 400 มิลลิกรัมต่อลิตร จะทำให้เกิดแรงดึงดูดแรงขึ้น การรวมตัวจึงเกิดมากขึ้น ความเข้มสีเขียวเพิ่มขึ้นหรือค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของ SPR ที่ 393 นาโนเมตรลดลงมาก แตกต่างกันตามปริมาณกาบา เมื่อนำความเข้มของสีเขียวไปพล๊อตกราฟเทียบกับความเข้มข้นของบัฟเฟอร์จะได้กราฟ ดังแสดงในภาพประกอบ 25 และ 26 จะเห็นว่าที่ความเข้มข้นของบัฟเฟอร์อะซิเตรทเท่ากับ 0.7 โมลาร์ จะให้ความเข้มสีเขียวเพิ่มขึ้นตามปริมาณกาบาที่ชัดเจน การทดลองนี้จึงเลือกบัฟเฟอร์อะซิเตรทที่ความเข้มข้น 0.7 โมลาร์



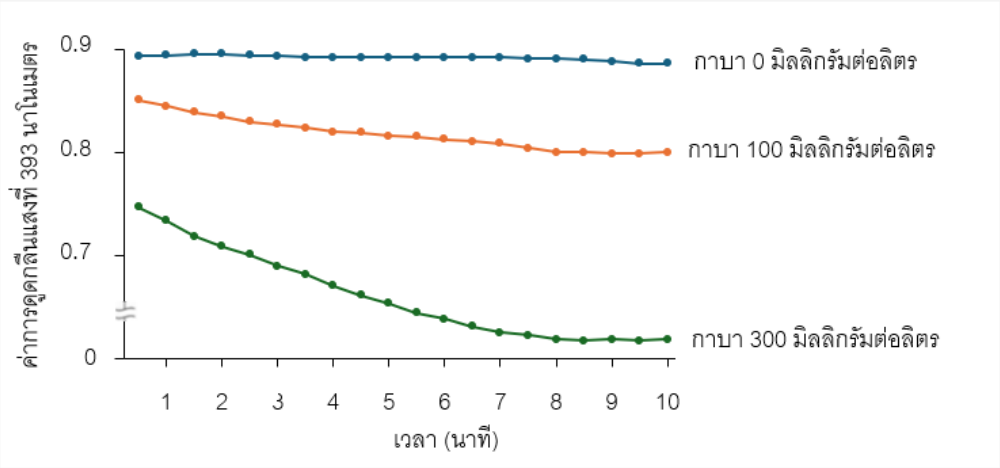
ภาพประกอบ 25 แสดงผลความเข้มข้นของบัฟเฟอร์อะซิเตรทในช่วง 0.1 – 1.0 โมลาร์ ในการจับกับกาบาของอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ได้ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี



ภาพประกอบ 26 แสดงผลความเข้มข้นของบัฟเฟอร์อะซิเตรทในช่วง 0.1 – 1.0 โมลาร์ ในการจับกับกาบาของอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ได้ด้วยเทคนิคสมาร์ตโฟน

4.2 การศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาสำหรับการตรวจวัดกาบาของ CT-AgNPs ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี

เมื่อเติมสารละลายมาตรฐานกาบาในแต่ละความเข้มข้น 0, 100 และ300 มิลลิกรัมต่อลิตรในบัฟเฟอร์อะซิเตรทความเข้มข้ม 0.7 โมลาร์ ที่ pH 3.8 ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตรลงใน 2.00 มิลลิลิตรของสารละลาย CT-AgNPs แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 393 นาโนเมตรเป็นเวลา 1 - 10 นาที พบว่าค่าการดูดกลืนแสงเมื่อใช้ความเข้มข้นของกาบา 100 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการลดลงอย่างต่อเนื่องในช่วง 1 - 8 นาที โดยหลังจาก 8 นาที ค่าการดูดกลืนแสงลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญ ดังภาพประกอบ 27 ซึ่งสอดคล้องกับภาพถ่ายแสดงการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย CT-AgNPs เมื่อเติมกาบาลงไปจะเห็นได้ว่าหลังจาก 8 นาที สารละลายมีการเปลี่ยนแปลงสีไม่แตกต่างกัน ดังแสดงในภาพประกอบ 25 ดังนั้นเวลาที่เหมาะสมในการตรวจหาปริมาณกาบาด้วย CT-AgNPs จะเริ่มทำการตรวจหาเมื่อเวลาผ่านไป 8 นาที

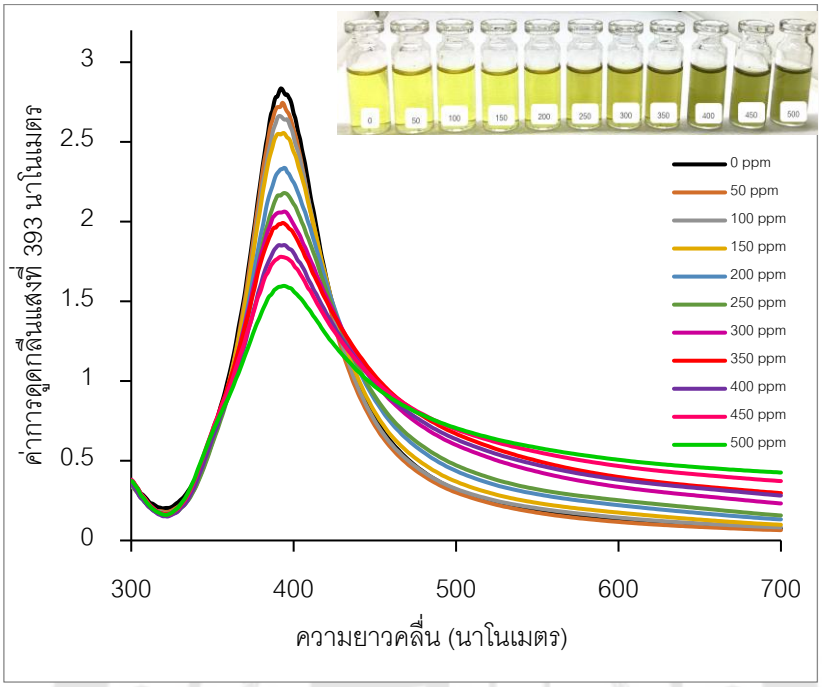


ภาพประกอบ 27 ค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลง ที่ความยาวคลื่น 393 นาโนเมตร ของสารผสมระหว่าง CT-AgNPs และกาบาที่ความเข้มข้น 0 100 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ในช่วงเวลา 1 - 10 นาที

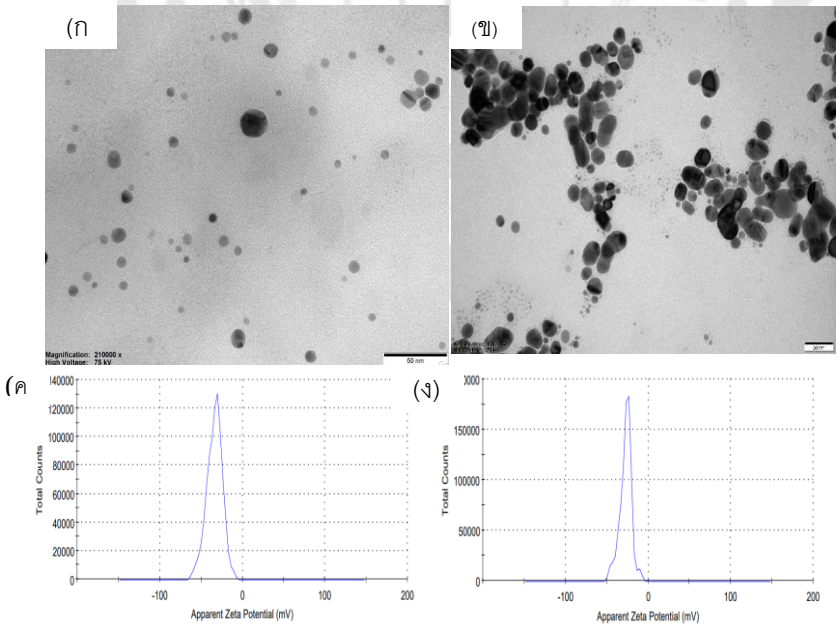
5. การศึกษาประสิทธิภาพการจับกันระหว่าง CT- AgNPs กับกาบาด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี

เมื่อทำการเติมกาบาที่อยู่ในบัฟเฟอร์อะซิเตรทความเข้มข้น 0.7 โมลาร์ ที่ pH 3.8 ในช่วงความเข้มข้น 0 - 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงใน 2.00 มิลลิลิตร ของสารละลาย CT-AgNPs พบว่าค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 393 นาโนเมตร มีค่าลดลงตามปริมาณกาบาที่เติมลงไป แล้วเกิดพีคใหม่ที่ความยาวคลื่นประมาณ 500 – 600 นาโนเมตร สารละลายมีการเปลี่ยนสีจากสีเหลืองเป็นสีเขียว ดังภาพประกอบ 28 เป็นผลมาจากแรงดึงดูดระหว่างประจุของอนุภาคนาโนเงินที่มีผิวเป็นลบกับกาบาที่มีประจุเป็นบวกทำให้อนุภาคนาโนเกิดการรวมตัว จึงเกิดพีคใหม่ที่ความยาวคลื่น 500 – 600 นาโนเมตร สอดคล้องกับ TEM ที่อนุภาคนาโนเงินก่อนเติมและหลังเติมกาบาเกิดการรวมตัว ดังภาพประกอบ 29 (ก) และ (ข) ซึ่งมีผลเป็นไปในทางเดียวกันกับค่า zeta potential เปลี่ยนจาก -33.90 มิลลิโวลต์เป็น -27.30 มิลลิโวลต์ บ่งชี้ถึงอนุภาคนาโนเงินมีการรวมตัวกันความเสถียรในสารละลายลดลง ดังภาพประกอบ 29 (ค) และ (ง) เมื่อทำการพล๊อตกราฟระหว่าง A_0-A ที่ความยาวคลื่น 393 นาโนเมตรกับความเข้มข้นของกาบาที่เติมลงไป พบว่าค่า A_0-A มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงกับความเข้มข้นของกาบาในช่วง 50 – 500 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สัมพันธ์เชิงเส้น (R^2) เท่ากับ 0.9914 มีค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (LOD) เท่ากับ 36.90 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์เชิงปริมาณได้ (LOQ) เท่ากับ

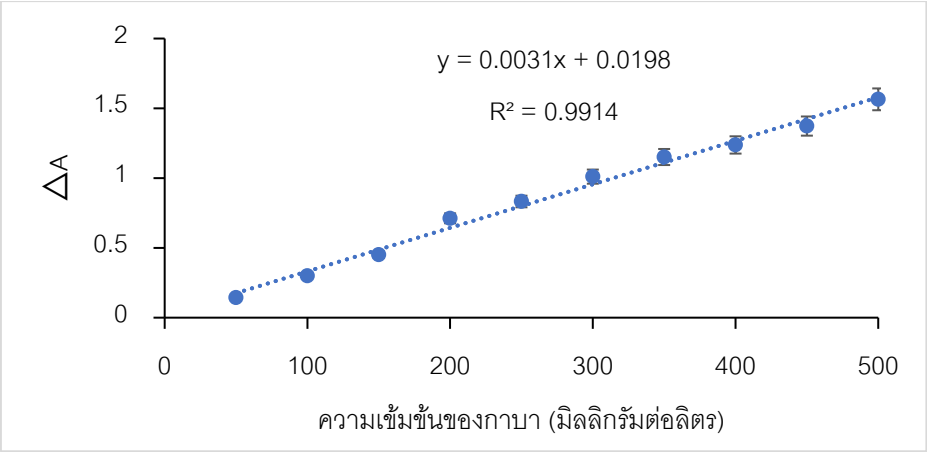
123.10 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังภาพประกอบ 30 ซึ่งคำนวณได้จาก 3SD/slop และ 10SD/slop โดยค่า SD คือส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวัด Blank 5 ครั้ง



ภาพประกอบ 28 สเปกตรัมของ CT-AgNPs เมื่อจับกับกาบา

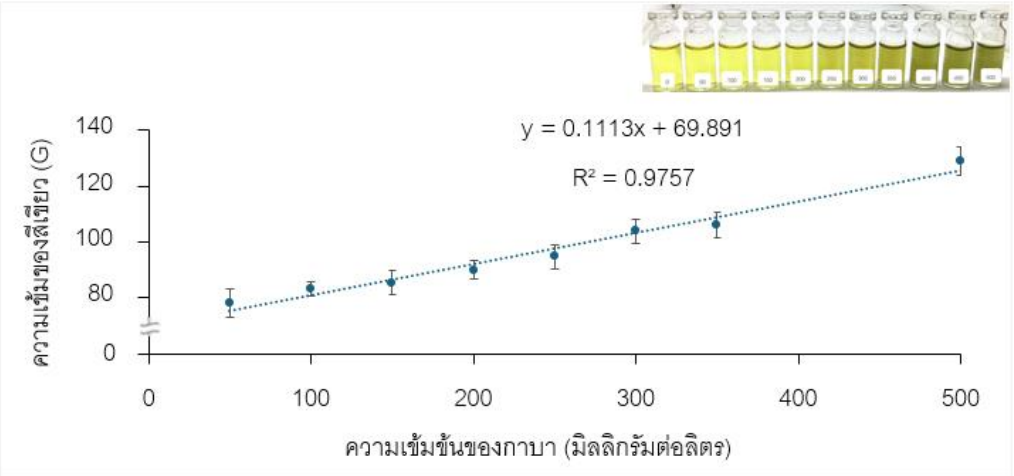


ภาพประกอบ 29 (ก) ภาพถ่าย TEM ของ CT-AgNPs ที่ไม่มีกาบา (ข) ภาพถ่าย TEM ของ CT-AgNPs ที่มีกาบา (ค) Zeta potential ของ CT-AgNPs ที่ไม่มีกาบา (ง) Zeta potential ของ CT-AgNPs ที่มีกาบา



ภาพประกอบ 30 กราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างความเข้มข้นของกาบากับ CT-AgNPs ที่ 393 นาโนเมตร

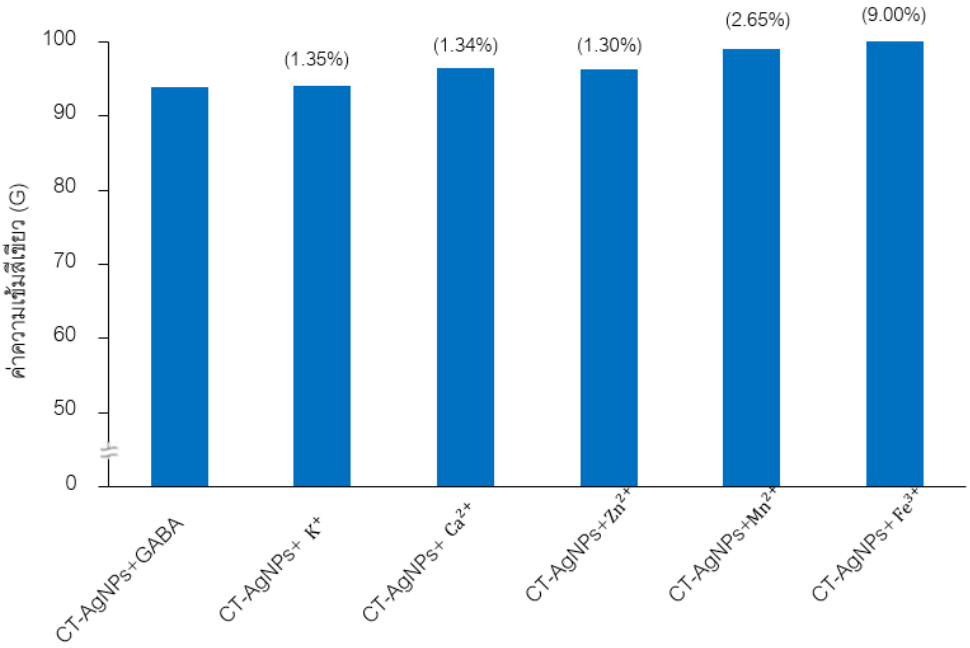
6. การศึกษาประสิทธิภาพการจับกันระหว่าง CT- AgNPs กับกาบาด้วยเทคนิคสมาร์ตโฟน เมื่อเติมกาบาในบัฟเฟอร์อะซิเตรทความเข้มข้น 0.70 โมลาร์ ที่ pH 3.8 ที่ความเข้มข้นในช่วง 0 – 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตรลงในแต่ละขวดของ 2.00 มิลลิลิตร CT-AgNPs เมื่อนำไปถ่ายภาพด้วยแอปพลิเคชัน PhotoMetrix พบว่าความเข้มสีเขียวเพิ่มขึ้นแปรตามปริมาณกาบา โดยมีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงกับความเข้มข้นของกาบาในช่วงความเข้มข้น 50 – 500 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีค่า R^2 เท่ากับ 0.9757 มีค่าความเข้มต่ำสุดที่สามารถตรวจพบได้ (LOD) เท่ากับ 44.20 มิลลิกรัมต่อลิตร และความเข้มต่ำสุดที่สามารถหาปริมาณได้ (LOQ) เท่ากับ 147.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังแสดงดังภาพประกอบ 31 สามารถประยุกต์ใช้เป็นเซ็นเซอร์เชิงแสงสำหรับการตรวจหากาบา



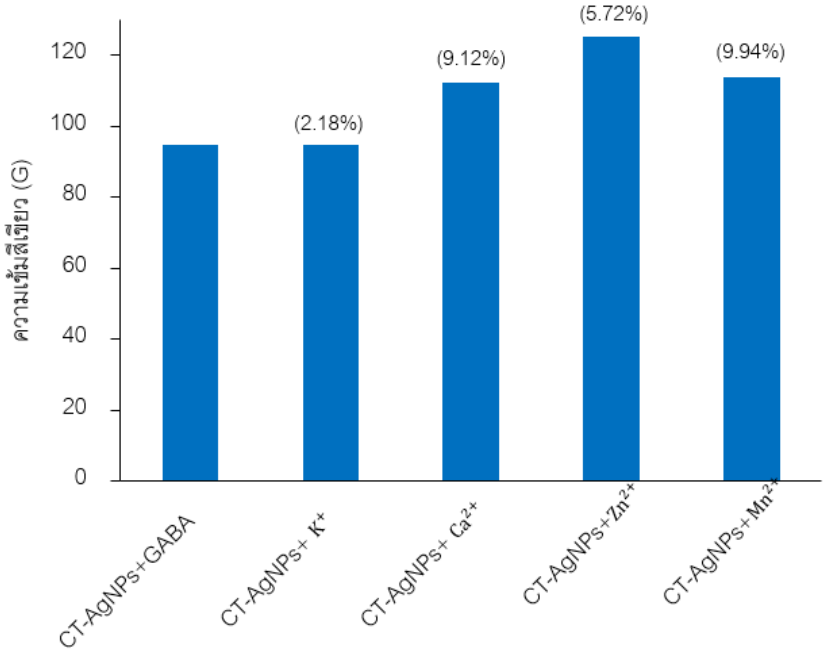
ภาพประกอบ 31 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของกาบากับความเข้มของสีเขียว

7. การศึกษาการรบกวนของไอออนที่เจือปนในเมล็ดข้าวที่ส่งผลต่อการจับกันของ CT-AgNPs กับกาบาด้วยเทคนิคสมาร์ตโฟน

ผลการศึกษาการรบกวนของไอออนบวกที่มีในเมล็ดข้าวคือ K^+, Ca^{2+}, Zn^{2+}, Mn^{2+} และ Fe^{3+} ด้วยเทคนิคสมาร์ตโฟน โดยการเติมไอออนบวกต่าง ๆ ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในกาบาความเข้มข้น 250 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มี CT-AgNPs จากผลการทดลอง พบว่าความเข้มข้นของ Fe^{3+} ที่ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร รบกวนการตรวจวัดกาบา ความเข้มสีเขียวมีค่าเพิ่มขึ้นมากกว่า 5% เป็นผลมาจาก Fe^{3+} มีประจุบวกสูง ขนาดเล็ก ทำให้มีค่า charge density สูง เกิดแรงดึงดูดกับประจุลบบนผิวของ CT-AgNPs ได้ดีจึงเกิดการรบกวนการตรวจวัด สอดคล้องกับ Ca^{2+} Zn^{2+} และ Mn^{2+} รบกวนการตรวจวัดกาบาที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเหตุผลเดียวกัน ต่างกันที่ประจุบวกลดลงและมีขนาดใหญ่กว่า Fe^{3+} จึงรบกวนที่ความเข้มข้นสูงกว่า มีเพียง K^+ ที่ไม่รบกวนการตรวจวัดกาบา เพราะมีประจุบวกต่ำ ขนาดใหญ่กว่าไอออนบวกอื่น ๆ ทำให้สามารถทนการรบกวนได้ถึง 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังภาพประกอบ 32 (ก)และ(ข)



(ก)



(ข)

ภาพประกอบ 32 กราฟแสดงค่าความเข้มของสีเขียว (ก) หลังการเติมไอออนชนิดต่าง ๆ ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และ(ข)หลังการเติมไอออนชนิดต่าง ๆ ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

8. ประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนเงินที่มีพื้นผิวเป็นลบเพื่อเป็นเซนเซอร์ทางเคมีสำหรับตรวจวัดปริมาณกาบาในตัวอย่างเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์กข 6 โดยใช้สมาร์ตโฟน

เมื่อนำอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ได้มาประยุกต์ใช้เป็นเซ็นเซอร์สำหรับการตรวจหาปริมาณของกาบาในตัวอย่างข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ กข 6 ทั้งหมด 6 ตัวอย่าง โดยการผสมสารละลาย CT-AgNPs กับตัวอย่างข้าวกล้องงอกในอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร แล้วนำไปตรวจวัดด้วยแอปพลิเคชัน PhotoMetrix ในสมาร์ตโฟน พบว่าปริมาณของกาบาในตัวอย่างข้าวขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์กข 6 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 123.26 และ 107.61 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) เท่ากับ 3.20 และ 1.68 ตามลำดับ เห็นได้ว่าวิธีสมาร์ตโฟนสามารถวัดปริมาณกาบาในตัวอย่างข้าวแต่ละสายพันธ์ได้ค่าใกล้เคียงกันแสดงถึงความเที่ยง (precision) ของวิธีที่พัฒนาขึ้น ดังแสดงในตาราง 2

ตาราง 2 ปริมาณของกาบาในตัวอย่างข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ กข 6 เมื่อนำมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคสมาร์ตโฟน

ตัวอย่างพันธุ์ข้าว	ตัวอย่างที่	ปริมาณกาบา (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)
ขาวดอกมะลิ 105	1	124.62	123.26	3.20
	2	125.56		
	3	119.60		
กข 6	1	106.32	107.61	1.68
	2	109.51		
	3	107.00		

บทที่ 5
สรุปผล อภิปรายผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้ได้ทำการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน เพื่อประยุกต์ใช้เป็นเซ็นเซอร์ทางเคมีสำหรับตรวจหาปริมาณของกาบาในเมล็ดข้าวโดยใช้ซิเตรทและอีดีทีเอทำหน้าที่เป็นตัวดัดแปลงพื้นผิวบนอนุภาคนาโนเงินให้มีผิวเป็นลบ เนื่องจากโมเลกุลทั้งสองมีหมู่ฟังก์ชันไฮดรอกซิลและหมู่คาร์บอนิล โดยงานวิจัยนี้ได้มีการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินทั้งหมด 3 ชนิดได้แก่ อนุภาคนาโนที่ถูกดัดแปงพื้นผิวด้วยซิเตรทได้เป็น CT-AgNPs อนุภาคนาโนเงินที่ถูกดัดแปลงพื้นผิวด้วยอีดีทีเอได้เป็น EDAT-AgNPs และอนุภาคนาโนเงินที่ถูดดัดแปลงพื้นผิวแบบ co-stabilized ด้วยซิเตรทและอีดีทีเอได้เป็น CT-EDTA-AgNPs โดยนำอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ได้มาประยุกต์ใช้ร่วมกับแอปพลิเคชัน PhotoMetrix บนสมาร์ตโฟนสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกาบาในตัวอย่างเมล็ดข้าว โดยมีการสรุปผลการวิจัยดังนี้

อนุภาคนาโนเงินที่ดัดแปลงพื้นผิวด้วยสารละลายอีดีทีเอได้เป็น EDTA-AgNPs และอนุภาคนาโนเงินที่ดัดแปลงพื้นผิวแบบ co-stabilized ด้วยสารละลายซิเตรทและอีดีทีเอ ได้เป็น CT-EDTA-AgNPs ได้สารละลายสีเหลือง มีค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 396 และ 395 นาโนเมตร มีรูปร่างเป็นทรงกลม และมีขนาดเฉลี่ย 10.64 และ 9.94 นาโนเมตร ตามลำดับ เมื่อนำมาจับกับกาบาที่อยู่ในบัฟเฟอร์อะซิเตรทความเข้มข้นของ 0.7 โมลาร์ ที่ pH 3.8 พบว่าสารละลายเปลี่ยนสีจากสีเหลืองเป็นสีเขียวโดยไม่สามารถแยกสีตามปริมาณของกาบาที่เติมลงไป จึงไม่สามารถนำใช้เป็นเซ็นเซอร์สำหรับการตรวจหากาบาได้ ในขณะที่อนุภาคนาโนเงินที่ถูกดัดแปลงพื้นผิวด้วยซิเตรทได้เป็น CT-AgNPs ที่มีสีเหลือง มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 393 นาโนเมตร มีรูปร่างเป็นทรงกลมและมีขนาดเฉลี่ย 6.90 นาโนเมตร และมีการกระจายตัวดีในสารละลาย จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของ CT-AgNPs ในการจับกับกาบา ที่เป็น pH 3.8 เนื่องจากมีค่าต่ำกว่าค่า pKa ของกรดอะซิติกซึ่งเท่ากับ 4.76 จะทำให้เกิดการเติมโปรตอนที่กาบาเกิดได้ดี ถ้า pH เท่ากับ 4.76 ความเข้มข้นของกรดอะซิติกและอะซิเตรทไอออนจะมีค่าเท่ากันทำให้การเติมโปรตอนที่กาบาไม่ดี เนื่องจากการแตกตัวของกรดอะซิติกลดลง ยิ่งถ้า pH มากกว่า 4.76 การเติมโปรตอนที่กาบาจะไม่เกิดหรือเกิดไม่ดีเพราะโปรตอนลดลงในระบบ แต่ถ้า pH น้อยกว่า 3.8 หรือเป็นกรดมากกว่านั้น จะเกิดการเติมโปรตอนที่กาบาได้ดีมากแต่จะทำให้ผิวของอนุภาคนาโนเงินที่มีอะซิเตรทกลายเป็นกรดอะซิติก อนุภาคนาโนเงินจะเกิดการรวมตัวกันและเกิดการสลายตัว งานวิจัยนี้จึงเลือกให้บัฟเฟอร์อะซิเตรทที่ pH 3.8 ดังงานของ Jinnarak และคณะ (Jinnarak & Teerasong, 2016) โดยที่ใช้บัฟเฟอร์อะซิเตรทที่ pH 3.8 ได้ทำการศึกษาทั้ง 2 ปัจจัย

ได้แก่ ความเข้มข้นของบัฟเฟอร์อะซิเตรทและเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา โดยการหาความเข้มข้นของบัฟเฟอร์อะซิเตรทที่เหมาะสม ผู้วิจัยได้เลือกศึกษาที่ความเข้มข้น 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 และ 1.0 โมลาร์ ที่ pH 3.8 เมื่อนำมาวัดค่าด้วยวิธียูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปีและสมาร์ตโฟน พบว่าความเข้มข้นของบัฟเฟอร์อะซิเตรทที่ 0.7 โมลาร์ เปลี่ยนแปลงสีตามปริมาณกาบาจากสีเหลืองเป็นสีเขียวอย่างชัดเจน สอดคล้องกับค่าการเพิ่มขึ้นของความเข้มสีเขียว (G) และการลดลงของค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 393 นาโนเมตร บัฟเฟอร์อะซิเตรทความเข้มข้น 0.7 โมลาร์ จึงเหมาะสมในการตรวจหาปริมาณของกาบาในสารตัวอย่าง สำหรับการศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการตรวจวัด โดยการวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 393 นาโนเมตรในช่วงเวลา 1 – 10 นาที พบว่าค่าการดูดกลืนแสงมีค่าลดลงอย่างต่อเนื่องในช่วง 1 – 8 นาที หลัง 8 นาที ค่าการดูดกลืนแสงมีการเปลี่ยนแปลงอย่างไม่มีนัยสำคัญ จึงสรุปได้ว่า เมื่อเวลาผ่านไป 8 นาทีเป็นเวลาที่เหมาะสมในการตรวจหากาบา เมื่อนำไปศึกษาประสิทธิภาพของ CT-AgNPs ในการจับกับกาบาด้วยวิธียูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี พบว่าค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 393 นาโนเมตร มีค่าลดลงแปรตามปริมาณกาบา ค่าดูดกลืนคลื่นแสง ($A_0 – A$) กับความเข้มข้นของกาบาที่เติมลงไปมีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 50 - 500 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สัมพันธ์เชิงเส้น (R^2) เท่ากับ 0.9914 ค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (LOD) เท่ากับ 36.90 มิลลิกรัมต่อลิตรและค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์เชิงปริมาณได้ (LOQ) เท่ากับ 123.10 มิลลิกรัมต่อลิตร และผลจากการใช้สมาร์ตโฟนร่วมกับแอปพลิเคชัน PhotoMetrix ในการหาปริมาณกาบา สารละลายมีการเปลี่ยนสีจากสีเหลืองเป็นสีเขียว โดยใช้ค่าความเข้มสีเขียว (G) เพิ่มขึ้นแปรตามปริมาณกาบา โดยมีความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 50 – 500 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าสัมประสิทธิ์สัมพันธ์เชิงเส้น (R^2) เท่ากับ 0.9757 ค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (LOD) เท่ากับ 44.20 มิลลิกรัมต่อลิตรและค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์เชิงปริมาณได้ (LOQ) เท่ากับ 147.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่า R^2 ที่ได้ในงานวิจัยนี้เป็นที่ยอมรับได้จากผลการสืบค้นงานวิจัยที่ได้กล่าวไว้ในบทที่ 2 พบ R^2 อยู่ในช่วง 0.96 – 0.99 ผลการรบกวนจากไอออนชนิดต่าง ๆ ที่มีผลต่อการจับกันของอนุภาคนาโนเงินกับกาบา โดยไอออนที่นำมาศึกษาได้แก่ K^+, Mn^{2+}, Ca^{2+}, Fe^{3+} และ Zn^{2+} ซึ่งไอออนเหล่านี้สามารถพบได้ในเมล็ดข้าวจากการศึกษาพบว่าความเข้มข้นของ Fe^{3+} ที่ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร รบกวนการตรวจวัดกาบา ความเข้มสีเขียวมีค่าเพิ่มขึ้นมากกว่า 5% เป็นผลมาจาก Fe^{3+} มีประจุบวกสูง ขนาดเล็ก ทำให้มีค่า charge density สูง เกิดแรงดึงดูดกับประจุลบบนผิวของ CT-AgNPs ได้ดีจึงเกิดการรบกวนการตรวจวัด สอดคล้องกับ Ca^{2+}, Zn^{2+} และ Mn^{2+} รบกวนการตรวจวัดกาบาที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเหตุผลเดียวกัน ต่างกันที่

ประจุบวกลดลงและมีขนาดใหญ่กว่า Fe^{3+} จึงรบกวนที่ความเข้มข้นสูงกว่า มีเพียง K^{+} ที่ไม่รบกวนการตรวจวัดกาบา เพราะมีประจุบวกต่ำขนาดใหญ่กว่าไอออนบวกอื่น ๆ แต่อย่างไรก็ตามเราสามารถใช้ CT-AgNPs ในการตรวจหากาบาในเมล็ดข้าวได้ เนื่องจาก ไอออนบวก Ca^{2+}, Zn^{2+}, Mn^{2+} และ Fe^{3+} มีปริมาณน้อยมากในข้าวกล้องงอก จึงไม่สามารถรบกวนการตรวจหากาบาในเมล็ดข้าวได้

จากผลการทดลองข้างต้น นำไปสู่การประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนเงินเป็นเซ็นเซอร์ทางเคมีสำหรับการตรวจหาปริมาณกาบา ในตัวอย่างเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ กข 6 ทั้งหมด 6 ตัวอย่างที่ผ่านกระบวนการงอก เห็นได้ว่าการใช้สมาร์ตโฟนสามารถวัดปริมาณกาบาในข้าวขาวดอกมะลิได้ปริมาณกาบามากกว่าข้าวพันธุ์ กข 6 ซึ่งเป็นไปตาม (Karladee & Suriyong, 2012) ที่มีการตรวจวัดหาปริมาณกาบาด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรีพบว่าปริมาณกาบาในข้าวขาวดอกมะลิ 105 มีปริมาณกาบาสูงกว่าข้าวเหนียว จึงสรุปได้ว่า CT-AgNPs ที่สังเคราะห์ขึ้นได้นั้น สามารถนำมาประยุกต์ใช้กับสมาร์ตโฟนร่วมกับแอปพลิเคชัน PhotoMetrix ในการวิเคราะห์หากาบาได้จากการวัดความเข้มสีของสารละลาย จึงนับว่าเป็นอีกหนึ่งทางเลือกในการนำมาวิเคราะห์ที่สามารถทำได้ง่าย รวดเร็ว สะดวก ราคาถูก สามารถนำไปใช้ในภาคสนามได้

สำหรับการนำงานวิจัยไปประยุกต์ใช้ ผู้วิจัยมีข้อเสนอแนะว่า สภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดคือ pH 3.8 และควรใช้แอปพลิเคชัน PhotoMetrix กับสมาร์ตโฟนเครื่องเดิมตลอดการทดลอง ในส่วนการพิสูจน์เอกลักษณ์และการรวมตัวกันของอนุภาคนาโนเงิน สามารถยืนยันได้โดยเทคนิคอื่น ๆ เพิ่มเติม ยกตัวอย่างเช่น เทคนิค Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) และเทคนิคถ่ายภาพ Scanning electron microscopy (SEM) โดยเทคนิคดังกล่าวจะแสดงการเปลี่ยนแปลงขนาดของอนุภาคนาโนเงินเมื่อเกิดการรวมตัวกันได้อย่างชัดเจนมากยิ่งขึ้น

บรรณานุกรม

Al-Wadei, H. A., Ullah, M. F., & Al-Wadei, M. (2011). GABA (γ-aminobutyric acid), a non-protein amino acid counters the β-adrenergic cascade-activated oncogenic signaling in pancreatic cancer: A review of experimental evidence. *Molecular nutrition & food research*, 55(12), 1745-1758.

Beyene, H. D., Werkneh, A. A., Bezabh, H. K., & Ambaye, T. G. (2017). Synthesis paradigm and applications of silver nanoparticles (AgNPs), a review. *Sustainable materials and technologies*, 13, 18-23.

Böck, F. C., Helfer, G. A., Costa, A. B., Dessuy, M. B., & Ferrão, M. F. (2020). PhotoMetrix and colorimetric image analysis using smartphones. *Journal of Chemometrics*, 34(12).

Busch, K., & Fromm, H. (1999). Plant Succinic Semialdehyde Dehydrogenase. Cloning, Purification, Localization in Mitochondria, and Regulation by Adenine Nucleotides. *Plant physiology*, 121, 589-597.

Chen, L., Zhao, H., Zhang, C., Lu, Y., Zhu, X., & Lu, Z. (2016). γ-Aminobutyric acid-rich yogurt fermented by Streptococcus salivarius subsp. thermophiles fmb5 apprars to have anti-diabetic effect on streptozotocin-induced diabetic mice. *Journal of functional foods*, 20, 267-275.

Cho, S. Y., Park, M. J., Kim, K. M., Ryu, J.-H., & Park, H. J. (2011). Production of high γ-aminobutyric acid (GABA) sour kimchi using lactic acid bacteria isolated from mukeunjee kimchi. *Food Science and Biotechnology*, 20, 403-408.

Diana, M., Quílez, J., & Rafecas, M. (2014). Gamma-aminobutyric acid as a bioactive compound in foods: a review. *Journal of functional foods*, 10, 407-420.

Gamel-Didelon, K., Corsi, C., Pepeu, G., Jung, H., Gratzl, M., & Mayerhofer, A. (2002). An autocrine role for pituitary GABA: activation of GABA-B receptors and regulation of growth hormone levels. *Neuroendocrinology*, 76(3), 170-177.

Gordon, F. J., & Sved, A. F. (2002). Neurotransmitters in central cardiovascular regulation: glutamate and GABA. *Clinical and experimental pharmacology and physiology*,

29(5-6), 522-524.

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(2), 356-360.

Jinnarak, A., Anantavichian, P., Intanin, A., Fungladda, S., Choengchan, N., Wilairat, P., Nacapricha, D., & Teerasong, S. (2016). Sequential injection for determination of gamma-aminobutyric acid based on its effect on second order light scattering of silver nanoparticles. *Journal of Food Composition and Analysis*, 51, 69-75.

Jinnarak, A., & Teerasong, S. (2016). A novel colorimetric method for detection of gamma-aminobutyric acid based on silver nanoparticles. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 229, 315-320.

João, A. F., Squissato, A. L., Fernandes, G. M., Cardoso, R. M., Batista, A. D., & Muñoz, R. A. (2019). Iron (III) determination in bioethanol fuel using a smartphone-based device. *Microchemical Journal*, 146, 1134-1139.

Kailasa, S. K., Chandel, M., Mehta, V. N., & Park, T. J. (2018). Influence of ligand chemistry on silver nanoparticles for colorimetric detection of Cr^{3+} and Hg^{2+} ions. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 195, 120-127.

Kajikawa, K. (2018). Sensing based on localized surface plasmon resonance in metallic nanoparticles. In *Nanoparticle Technology Handbook* (pp. 631-633). Elsevier.

Karladee, D., & Suriyong, S. (2012). γ-Aminobutyric acid (GABA) content in different varieties of brown rice during germination. *Science Asia*, 38(1), 13-17.

Khan, I., Saeed, K., & Khan, I. (2019). Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(7), 908-931.

Khuhawar, M., & Rajper, A. (2003). Liquid chromatographic determination of γ-aminobutyric acid in cerebrospinal fluid using 2-hydroxynaphthaldehyde as derivatizing reagent. *Journal of Chromatography B*, 788(2), 413-418.

Kim, H. Y., Yokozawa, T., Nakagawa, T., & Sasaki, S. (2004). Protective effect of γ-

aminobutyric acid against glycerol-induced acute renal failure in rats. *Food and chemical toxicology*, 42(12), 2009-2014.

Kumar, V. V., & Anthony, S. P. (2014). Highly selective silver nanoparticles based label free colorimetric sensor for nitrite anions. *Analytica chimica acta*, 842, 57-62.

Laliwala, S. K., Mehta, V. N., Rohit, J. V., & Kailasa, S. K. (2014). Citrate-modified silver nanoparticles as a colorimetric probe for simultaneous detection of four triptan-family drugs. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 197, 254-263.

Le, P. H., Verscheure, L., Le, T. T., Verheust, Y., & Raes, K. (2020). Implementation of HPLC analysis for γ-aminobutyric acid (GABA) in fermented food matrices. *Food Analytical Methods*, 13, 1190-1201.

Li, X., Li, J., Ling, J., Wang, C., Ding, Y., Chang, Y., Li, N., Wang, Y., & Cai, J. (2020). A smartphone-based bacteria sensor for rapid and portable identification of forensic saliva sample. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 320, 128303.

Liu, T., Li, B., Zhou, Y., Chen, J., & Tu, H. (2015). HPLC determination ofγ-aminobutyric acid in Chinese rice wine using pre-column derivatization. *Journal of the Institute of Brewing*, 121(1), 163-166.

Mamiya, T., Kise, M., Morikawa, K., Aoto, H., Ukai, M., & Noda, Y. (2007). Effects of pre-germinated brown rice on depression-like behavior in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 86(1), 62-67.

Minuk, G. (2000). GABA and hepatocellular carcinoma. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 207, 105-108.

Mullins, P. G., McGonigle, D. J., O'Gorman, R. L., Puts, N. A., Vidyasagar, R., Evans, C. J., & Edden, R. A. (2014). Current practice in the use of MEGA-PRESS spectroscopy for the detection of GABA. *Neuroimage*, 86, 43-52.

Niwa, O., Kurita, R., Horiuchi, T., & Torimitsu, K. (1998). Small-volume on-line sensor for continuous measurement of γ-aminobutyric acid. *Analytical chemistry*, 70(1), 89-93.

Qi, Y.-X., Qu, Z.-b., Wang, Q.-X., Zhang, M., & Shi, G. (2017). Nanomolar sensitive colorimetric assay for Mn^{2+} using cysteic acid-capped silver nanoparticles and

theoretical investigation of its sensing mechanism. *Analytica chimica acta*, 980, 65-71.

Sajed, S., Arefi, F., Kolahdouz, M., & Sadeghi, M. (2019). Improving sensitivity of mercury detection using learning based smartphone colorimetry. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 298, 126942.

Sangsin, S., Srivilai, P., & Tongraung, P. (2021). Colorimetric detection of Cr^{3+} in dietary supplements using a smartphone based on EDTA and tannic acid-modified silver nanoparticles. *Spectrochimica Acta, Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 246, 119050.

Sangubotla, R., & Kim, J. (2019). A facile enzymatic approach for selective detection of γ-aminobutyric acid using corn-derived fluorescent carbon dots. *Applied Surface Science*, 490, 61-69.

Shahvar, A., Shamsaei, D., & Saraji, M. (2020). A portable smartphone-based colorimetric sensor for rapid determination of water content in ethanol. *Measurement*, 150, 107068.

Shelp, B. J., Bown, A. W., & McLean, M. D. (1999). Metabolism and functions of gamma-aminobutyric acid. *Trends in plant science*, 4(11), 446-452.

Sheng , Q. L., Yuan, W., Hou, Y. C., & Du, L. M. (2010). Spectrophotometric study of the charge transfer complexation of some amino acid derivative drugs as electron donors with 7, 7, 8, 8-tetracyanoquinodimethane. *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*, 24(1).

Shizuka, F., Kido, Y., Nakazawa, T., Kitajima, H., Aizawa, C., Kayamura, H., & Ichijo, N. (2004). Antihypertensive effect of γ-amino butyric acid enriched soy products in spontaneously hypertensive rats. *Biofactors*, 22(1-4), 165-167.

Shrivas, K., Sahu, S., Patra, G. K., Jaiswal, N. K., & Shankar, R. (2016). Localized surface plasmon resonance of silver nanoparticles for sensitive colorimetric detection of chromium in surface water, industrial waste water and vegetable samples. *Analytical Methods*, 8(9), 2088-2096.

Sungwienwong, I., Dankhanob, L., Kerdkok, D., Tongraung, P., & Apiratikul, N. (2023a).

Functionalized Silver Nanoparticles for Rapid Detection of Mn^{2+} Employing a Smartphone Platform. *ChemistrySelect*, 8(6), e202204514.

Sungwienwong, I., Dankhanob, L., Kerdkok, D., Tongraung, P., & Apiratikul, N. (2023b). Functionalized Silver Nanoparticles for Rapid Detection of Mn^{2+} Employing a Smartphone Platform. *ChemistrySelect*, 8(6).

Ting Wong, C. G., Bottiglieri, T., & Snead III, O. C. (2003). Gaba, γ-hydroxybutyric acid, and neurological disease. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, 54(S6), S3-S12.

Wei, J., Chen, J., Yue, G., Hu, L., Zhao, D., Zhu, J., Yang, L., Huang, D., & Zhao, P. (2018). Development of a novel tridentate ligand for colorimetric detection of Mn2+ based on AgNPs. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 202, 244-251.

Yokozawa, K., Hyun Young, Takako, Nakagawa, T., & Sasaki, S. (2004). Protective effect of γ-aminobutyric acid against glycerol-induced acute renal failure in rats. *Food and chemical toxicology*, 42(12), 2009-2014.

Zhang, G., & Bown, A. W. (1997). The rapid determination of γ-aminobutyric acid. *Phytochemistry*, 44(6), 1007-1009.

Zhang, L., Huang, D., Zhao, P., Yue, G., Yang, L., & Dan, W. (2022). Colorimetric detection for uranyl ions in water using vinylphosphonic acid functionalized gold nanoparticles based on smartphone. *Spectrochimica Acta, Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 269, 120748.

Zieminska, E., Toczylowska, B., Diamandakis, D., Hilgier, W., Filipkowski, R. K., Polowy, R., Orzel, J., Gorka, M., & Lazarewicz, J. W. (2018). Glutamate, glutamine and GABA levels in rat brain measured using MRS, HPLC and NMR methods in study of two models of autism. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 11, 418.

กานต์พิมล กรไกร และรินา ภัทรมานนท. (2560). อนุภาคเงินนาโนสังเคราะห์ด้วยสารสกัดจากพืชและความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์. วารสารวิทยาศาสตร์ มข, 45(1): 34-52(1).

สนอง เอกสิทธิ์. (2558, มีนาคม). การสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนแบบควบคุมสัณฐานวิทยา.

วารสารสถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีชั้นสูง, 1(1), หน้า 1 - 16.

อภิวัฒน์ ชมภูสอ. (2556). โครงสร้างระดับนาโนของทอง:การสังเคราะห์และการประยุกต์ใช้ในการรักษาโรคมะเร็ง. วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 41, 859-872.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นางLadnaphone Hadaoheuang
วัน เดือน ปี เกิด	16 Nov 1993
สถานที่เกิด	LAOS
วุฒิการศึกษา	พ.ศ. 2549 มัธยมปลาย โรงเรียนมัธยมตอนปลายปากเซ พ.ศ. 2553 ปริญญาตรี คณะศึกษาศาสตร์ สาขาเคมี มหาวิทยาลัยแห่งชาติลาว
ที่อยู่ปัจจุบัน	บ้าน โนนสว่าง หมู่ 13 นครปากเซ แขวงจำปาสัก ประเทศสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว