



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การใช้อนุภาคเงินระดับนาโนเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์
The Use of Silver Nanoparticles for Determination of Hydrogen Peroxide

ดร. เสาวภาคย์ ชีราทรง

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัย
จากเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2556
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ชื่อโครงการ การใช้อนุภาคเงินระดับนาโนเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

แหล่งเงิน งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินรายได้ คณะวิทยาศาสตร์

ประจำปีงบประมาณ 2556

จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 50,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี

ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2555 ถึง 30 กันยายน 2556

ชื่อ-สกุล หัวหน้าโครงการ ดร. เสาวภาคย์ ชีราทรง

หน่วยงานต้นสังกัด สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

โครงการงานวิจัยนี้เป็นการพัฒนาระบบไหลสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยใช้อนุภาคเงินระดับนาโนเป็นตัวติดตาม ซึ่งอาศัยหลักการที่ว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะไปออกซิไดซ์อนุภาคเงินระดับนาโนให้กลายเป็นไอออนของเงิน ซึ่งเกิดเป็นสารประกอบที่ไม่มีสีกับไอออนของซีเตรต ส่งผลให้สีของสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนเปลี่ยนจากสีเหลืองกลายเป็นใสไม่มีสี ซึ่งตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงด้วยเครื่อง UV-vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 398 nm ในการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ทำได้โดยการสร้างกราฟมาตรฐาน ซึ่งให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในช่วงความเข้มข้น 9.9 – 19.8 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้สมการเส้นตรงคือ ความสูงของพีค = $0.008[\text{ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์}] + 0.230$ ($R^2 = 0.990$) มีค่าขีดจำกัดต่ำสุดสำหรับการตรวจวัดและการวิเคราะห์เชิงปริมาณ เท่ากับ 1.38 และ 4.60 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ มีค่า %RSD เท่ากับ 2.96 % วิธีที่พัฒนาขึ้นนี้เป็นวิธีที่ง่าย การดำเนินการไม่ยุ่งยากซับซ้อน สามารถพัฒนาให้เป็นระบบอัตโนมัติได้ มีความแม่นยำสูง ใช้ปริมาณสารตัวอย่างน้อย เป็นวิธีที่มีราคาไม่แพง และมีความรวดเร็วในการวิเคราะห์ (18 ตัวอย่างต่อชั่วโมง) วิธีที่พัฒนาขึ้นสามารถนำไปประยุกต์ในการวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในตัวอย่างยา และผลิตภัณฑ์ซักผ้าขาว ผลที่ได้เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการไทเทรตพบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

คำสำคัญ : ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์, อนุภาคเงินระดับนาโน, ระบบการไหล

Research Title: The Use of Silver Nanoparticles for Determination of Hydrogen Peroxide

Researcher: Dr. Saowapak Teerasong

Faculty: Science

Department: Chemistry

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

ABSTRACT

The purpose of this special project was to develop a simple flow method for determination of hydrogen peroxide using silver nanoparticles as a colorimetric probe. This method is based on the oxidation of silver nanoparticles by hydrogen peroxide. This results in a color change of silver nanoparticles solution from yellow to colorless. The spectrophotometric detection was carried out at 398 nm. Under the optimum condition, the linear calibration was obtained in range of 9.9 - 19.8 ppm of hydrogen peroxide ($\Delta_{\text{peak height}} = 0.008[\text{hydrogen peroxide}] + 0.230, r^2 = 0.990$). The detection limit and quantitation limit are 1.38 and 4.6 ppm, respectively. The system provides high precision (2.96% RSD) and rapid analysis (18 samples/hour). The developed method is simple, easy to operation and amendable to automation. The developed method could be successfully applied to the determination of hydrogen peroxide content in pharmaceutical and bleaching products. The obtained results were validated with the results from titration method, there is no significant difference between two methods.

Keywords : hydrogen peroxide, silver nanoparticles, flow system

III

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้า
คุณทหารลาดกระบัง จากแหล่งทุนเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2556

ดร. เสาวภาคย์ ชีราทรง
หัวหน้าโครงการวิจัย

IV

สารบัญ

บทที่	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ.....	IV
สารบัญตาราง.....	VI
สารบัญภาพ.....	VII
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของการวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 แนวคิด.....	4
2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
2.3 สมบัติของอนุภาคเงินระดับนาโน.....	10
2.4 การนำอนุภาคเงินระดับนาโนนำไปประยุกต์ใช้ในงานด้านเคมีวิเคราะห์.....	12
2.5 ระบบการไหล.....	15
2.6 วิธีดั้งเดิมที่ใช้วิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์.....	19
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	30
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์.....	30
3.2 การเตรียมสารเคมี.....	31
3.3 วิธีดำเนินการทดลอง.....	32
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	37
4.1 การศึกษาคุณลักษณะของอนุภาคเงินระดับนาโน.....	37
4.2 การศึกษาปฏิกิริยาเคมีระหว่างอนุภาคเงินระดับนาโนกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์.....	38

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
4.3 การพัฒนาระบบ FIA สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์.....	40
4.4 การศึกษาสถานะที่เหมาะสมของระบบ FIA สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์.....	41
4.5 การศึกษาคุณลักษณะเด่นของระบบ FIA ที่พัฒนาขึ้น.....	48
4.6 การประยุกต์ใช้วิธีที่พัฒนาขึ้นในการวิเคราะห์หาปริมาณ.....	50
4.7 การเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์.....	51
บทที่/5//สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	55
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	55
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	56
เอกสารอ้างอิง.....	57
ภาคผนวก.....	62
ประวัตินักวิจัย.....	64

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
3.1 แสดงตัวแปรในการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของระบบ FIA สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์.....	34
4.1 สรุปการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย AgNPs ความเข้มข้น 0.06, 0.12 และ 0.24 mM เมื่อมีการเติม 0.003, 0.03 และ 3 %w/v H ₂ O ₂	41
4.2 แสดงค่าที่เหมาะสมของพารามิเตอร์ต่างๆ.....	47
4.3 แสดงค่าสัญญาณที่ได้จากสารละลายแบลงค์.....	48
4.4 แสดงสัญญาณ และความเข้มข้นของ H ₂ O ₂ ที่มีในตัวอย่าง.....	50
4.5 แสดงผลการไทเทรต Na ₂ C ₂ O ₄ ด้วยสารละลายมาตรฐาน KMnO ₄	52
4.6 แสดงผลการไทเทรตตัวอย่างด้วยสารละลายมาตรฐาน KMnO ₄	53
4.7 ตารางเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ที่ได้จากวิธีที่พัฒนาขึ้นและวิธีการไทเทรต.....	54
5.1 แสดงค่าที่เหมาะสมของพารามิเตอร์ต่างๆ.....	55

VII

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1.1 แสดงโครงสร้างของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H ₂ O ₂).....	1
2.1 แสดงกลไกในการเปลี่ยนแปลงสีของ AuNPs เมื่อมีและไม่มี H ₂ O ₂	4
2.2 แสดงกลไกในการเปลี่ยนแปลงสีของ AuNPs เมื่อมีและไม่มี HCl และ oxidizer.....	5
2.3 แสดงลักษณะการแยกออกของ d-orbital ใน A) โครงสร้างแบบ Octahedral B) โครงสร้างแบบ Tetrahedral C) โครงสร้างแบบ Square planar.....	7
2.4 การบรรจุอิเล็กตรอนของ Ti ³⁺ ใน 3d-orbital ซึ่งมีโครงสร้างแบบ octahedral.....	7
2.5 (A) แสดงการประมาณจำนวนอะตอมและพื้นที่ผิวของอนุภาคทองคำนาโนที่มีขนาดแตกต่างกัน (B) เปรียบเทียบจำนวนอะตอมผิวหน้า (สีแดง) ของวัสดุขนาดปกติกับอนุภาคที่มีขนาดในระดับนาโน.....	9
2.6 High Resolution Transmission Electron Microscope (HRTEM) Images ของอนุภาคเงินระดับนาโน... 10	10
2.7 แสดงส่วนประกอบของระบบ FIA.....	15
2.8 แสดงการทำงานของ Peristaltic pump.....	16
2.9 แสดงการทำงานของ six – port injection valve.....	16
2.10 แสดงรูปแบบต่างๆ ของ reactors.....	17
2.11 แสดงการใช้ mini – column ในการ preconcentration ในระบบ FIA.....	18
2.12 แสดงการใช้ phase separator ในการสกัดในระบบ FIA.....	18
3.1 รูปแสดงระบบ FIA สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยสารละลาย AgNPs ใช้เป็น carrier, P คือ peristaltic pump, IV คือ injection valve, MC คือ ส่วนที่เกิดปฏิกิริยาในท่อ (ใช้ท่อ PTFE), D คือ spectrophotometer และ W คือภาชนะใส่ของเสีย.....	33
4.1 แสดงภาพที่ถ่ายได้ด้วยเครื่อง TEM ของอนุภาคเงินระดับนาโนที่สังเคราะห์ได้.....	37
4.2 แสดงให้เห็นถึง AgNPs ที่เสถียรด้วยประจุลบของไอออน citrate.....	38
4.3 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายของอนุภาคเงินระดับนาโนที่สังเคราะห์ได้.....	38
4.4 แสดงสีของสารละลาย และภาพถ่าย TEM เมื่อเติม 3%w/v H ₂ O ₂ ลงในสารละลาย AgNPs ความเข้มข้น 0.24 mM (A,B) และ 0.06 mM (C,D) ตามลำดับ.....	39
4.5 รูปแสดงระบบ FIA สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยสารละลาย AgNPs ใช้เป็น carrier, P คือ peristaltic pump, IV คือ injection valve, MC คือ ส่วนที่เกิดปฏิกิริยาในท่อ (ใช้ท่อ PTFE), D คือ spectrophotometer และ W คือภาชนะใส่ของเสีย.....	40

VIII

สารบัญภาพ (ต่อ)

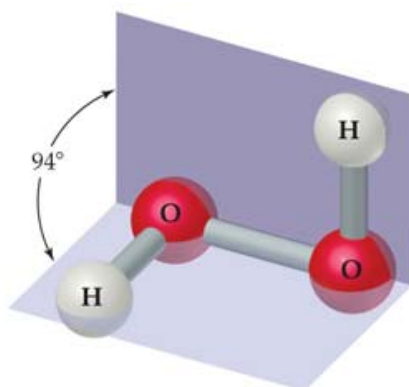
ภาพที่	หน้า
4.6 แสดงปฏิกิริยาระหว่างอนุภาคเงินระดับนาโนและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์.....	41
4.7 แสดง Absorption kinetic ของปฏิกิริยาระหว่าง AgNPs กับ H ₂ O ₂	42
4.8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสูงของสัญญาณการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของ H ₂ O ₂	43
4.9 (A) และ (C) แสดงสัญญาณที่วัดได้จากการฉีดสารละลายมาตรฐาน H ₂ O ₂ ความเข้มข้น 0.01, 0.1, 0.5, 1, 2.5, 5 และ 10 ppm เข้าสู่ระบบ FIA ที่มีสารละลาย 0.06 mM AgNPs เป็น carrier ด้วยอัตราการไหล 0.5 และ 1 mL/min ตามลำดับ โดยใช้ mixing coil ยาว 200 cm. และ sample loop ขนาด 300 μ L (B) และ (D) แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง peak height และความเข้มข้นของ H ₂ O ₂ ที่ใช้อัตราการไหลของ carrier เท่ากับ 0.5 และ 1 mL/min ตามลำดับ.....	45
4.10 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสูงของสัญญาณการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของ H ₂ O ₂ เมื่อใช้ sample loop ขนาด 100 (A) , 300 (B) และ 400 μ L (C) ในระบบ FIA ที่มีสารละลาย 0.06 mM AgNPs เป็น carrier ที่ไหลด้วยอัตราการไหล 1 mL/min. และใช้ mixing coil ยาว 200 cm....	46
4.11 แสดงระบบ FIA ที่พัฒนาขึ้นอย่างสมบูรณ์สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ H ₂ O ₂ โดยใช้ AgNPs เป็นตัวติดตาม ซึ่งใช้สารละลาย 0.06 mM AgNPs เป็น carrier.....	47
4.12 แสดงสัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยระบบ FIA ที่พัฒนาขึ้น โดย 10 พีคแรกเป็นเส้นสัญญาณของแบลคค์ 16 พีคต่อมาเป็นสัญญาณของสารละลายมาตรฐาน H ₂ O ₂ ความเข้มข้น 0.5, 1, 2.5, 5, 10, 12.5, 15, 17.5 และ 20 ppm ความเข้มข้นละ 2 พีค และ 6 พีคสุดท้ายเป็นสัญญาณของตัวอย่างยา และผลิตภัณฑ์ซักผ้าขาว 2 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ.....	49

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของการวิจัย

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) มีสูตรทางเคมีว่า H_2O_2 มีโครงสร้างดังรูปที่ 1.1 เป็นสารประกอบเปอร์ออกไซด์ (สารที่ประกอบด้วยออกซิเจนสองตัวและเชื่อมกันด้วยพันธะเดี่ยว) มีสภาพเป็นของเหลวใส หนืดน้อยกว่าน้ำเล็กน้อย มีรสขม เป็นตัวออกซิไดซ์ที่แรง เมื่อถูกแสงและความร้อนจะสลายตัวกลายเป็นออกซิเจนและน้ำ โดยทั่วไปไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะอยู่ในรูปของสารละลายเข้มข้นตั้งแต่ 3 – 90 wt% ถูกนำมาใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลายในด้านการเป็นสารฟอกสีในอาหาร ผลิตภัณฑ์ทำสีผมและสิ่งทอ เกษษกรรม ผลิตภัณฑ์ทางทันตกรรม สารทำความสะอาด และยังมีส่วนเกี่ยวข้องกับกระบวนการออกซิเดชันขั้นสูง (AOPs) และกระบวนการทางชีวเคมีต่างๆ



รูปที่ 1.1 แสดงโครงสร้างของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)

แต่อย่างไรก็ตาม ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ก็มีอันตรายต่อมนุษย์เมื่อสัมผัสหรือเข้าสู่ร่างกาย เนื่องจากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีฤทธิ์ในการกัดกร่อนสูง หากหายใจเอาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เข้าไปจะทำให้เจ็บคอ ไอ หายใจติดขัด เมื่อสัมผัสถูกผิวหนังจะทำให้เกิดผื่นแดง รู้สึกปวดแสบปวดร้อน หากสัมผัสถูกดวงตาจะก่อให้เกิดการระคายเคือง ตาแดง ปวดตา สายตาพร่ามัว หากรับประทานเข้าไปจะทำให้ระคายเคืองในคอ ทำให้เจ็บคอ ปวดท้องและอาเจียน และถ้า H_2O_2 สะสมในร่างกายมากจะก่อให้เกิดโรคมะเร็งได้

เพื่อเป็นการตรวจสอบและควบคุมปริมาณ H_2O_2 ในผลิตภัณฑ์ต่างๆ ให้อยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อมนุษย์ ปัจจุบันจึงมีหลายเทคนิคที่ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อใช้วิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 ได้แก่ High performance liquid chromatography (HPLC), Gas chromatography (GC), Spectrophotometry,

Luminescence, Electrochemical technique, Capillary electrophoresis (CE) , Enzyme immunoassay เป็นต้น ซึ่งเทคนิคเหล่านี้มีความไว (sensitivity) ต่อการตรวจวัด H_2O_2 สูง แต่มีข้อเสียคือ มีการใช้เครื่องมือวิเคราะห์ที่มีราคาแพง และการดำเนินการวิเคราะห์มีความยุ่งยากซับซ้อน

ในปัจจุบันได้มีการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ที่อาศัยระบบการไหล (Flow injection analysis : FIA) ซึ่งเทคนิคนี้อาศัยการฉีดสารละลายตัวอย่างเข้าสู่กระแสพาหะ (carrier) ซึ่งมีการไหลตลอดเวลา โดยการกระจาย (disperse) ของสารละลายตัวอย่าง และเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาจะถูกควบคุมให้เท่ากันทุกตัวอย่าง ทำให้วิธีวิเคราะห์ที่อาศัยระบบ FIA เป็นเทคนิคที่มีความแม่นยำสูง ประหยัดสารเคมี เกิดของเสียน้อยลง ทำได้อย่างอัตโนมัติและรวดเร็ว เนื่องจากไม่จำเป็นต้องรอให้ปฏิกิริยาเข้าสู่สมดุล

เมื่อเร็วๆ นี้ ได้มีผู้พัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณกรดไฮโดรคลอริกโดยใช้อนุภาคทองคำระดับนาโน (Gold nanoparticles : AuNPs) เป็นตัวติดตาม โดยวิธีนี้อาศัยการเกิดปฏิกิริยา oxidation ของ AuNPs ภายใต้สภาวะที่มีตัวออกซิไดซ์ที่แรงอยู่ด้วย เช่น กรดไนตริก หรือไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ทำให้เกิดเป็นไอออนของทอง ส่งผลทำให้สัญญาณ surface plasmon resonance peak ของ AuNPs ลดลง และสีของสารละลาย AuNPs ซึ่งมีสีแดงมีสีจางลงจนกลายเป็นใสไม่มีสี ซึ่งความเข้มของสีที่เปลี่ยนแปลงไปจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก ทำให้สามารถใช้หลักการนี้ในการวิเคราะห์หาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้เช่นกัน โดยจะตรวจวัดการเปลี่ยนของสีด้วยเทคนิค UV – vis Spectroscopy

ดังนั้นโครงการวิจัยนี้จึงมีแนวคิดที่จะพัฒนาระบบ FIA สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยใช้อนุภาคเงินระดับนาโน (silver nanoparticles : AgNPs) เป็นตัวติดตาม เนื่องจาก AgNPs มีต้นทุนในการเตรียมที่ถูกกว่า AuNPs ซึ่งระบบที่พัฒนาขึ้นมีจุดเด่นคือ เป็นระบบที่มีความเป็นอัตโนมัติ ทำให้การวิเคราะห์มีความแม่นยำสูง (precision) ลดภาระแรงงาน (labor work) ของผู้ทำการทดลอง และระบบที่พัฒนาขึ้นจะนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในผลิตภัณฑ์ซักผ้าขาว และผลิตภัณฑ์ยา

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 1.2.1 ศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโน
- 1.2.2 พัฒนาระบบการไหลสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยใช้อนุภาคเงินระดับนาโนเป็นตัวติดตาม
- 1.2.3 นำระบบที่พัฒนาขึ้นไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ซักผ้าขาว และผลิตภัณฑ์ยา

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

- 1.3.1 สังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโน
- 1.3.2 ศึกษาคุณลักษณะ (characteristics) ของอนุภาคเงินระดับนาโนที่สังเคราะห์ได้ โดยใช้เทคนิค Transmission Electron Microscopy (TEM) และเทคนิค UV – vis Spectroscopy
- 1.3.3 ศึกษากลไกการเกิดปฏิกิริยาระหว่างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และอนุภาคเงินระดับนาโน
- 1.3.4 พัฒนาระบบการไหลสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยใช้อนุภาคเงินระดับนาโนเป็นตัวติดตาม และตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงด้วยเทคนิค UV – vis Spectroscopy
- 1.3.5 ศึกษาสภาวะการทดลองที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยใช้อนุภาคเงินระดับนาโนเป็นตัวติดตาม และตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงด้วยเทคนิค UV – vis Spectroscopy
- 1.3.5 นำวิธีที่ได้พัฒนาขึ้นไปประยุกต์ใช้หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ผลิตภัณฑ์ซักผ้าขาว และผลิตภัณฑ์ยา
- 1.3.6 ตรวจสอบผลการวิเคราะห์ที่ได้จากวิธีใหม่ที่พัฒนาขึ้นกับวิธีการไทเทรต

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

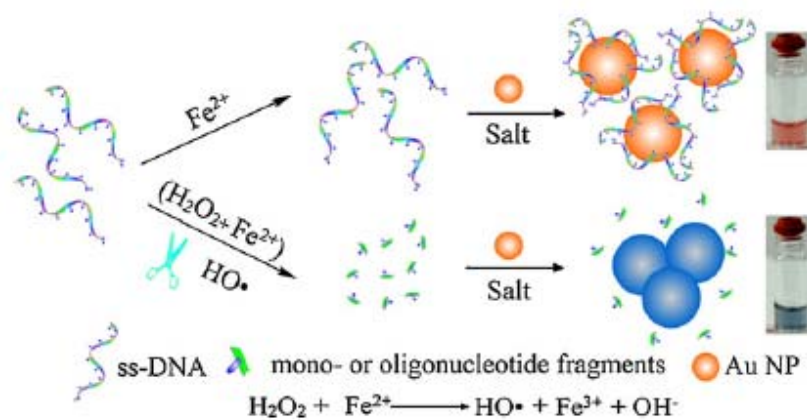
- 1.4.1 สามารถสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโนได้
- 1.4.2 เข้าใจกลไกการเกิดปฏิกิริยาระหว่างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และอนุภาคเงินระดับนาโน
- 1.4.3 ได้วิธีใหม่สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยใช้อนุภาคเงินระดับนาโนเป็นตัวติดตาม

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 แนวคิด

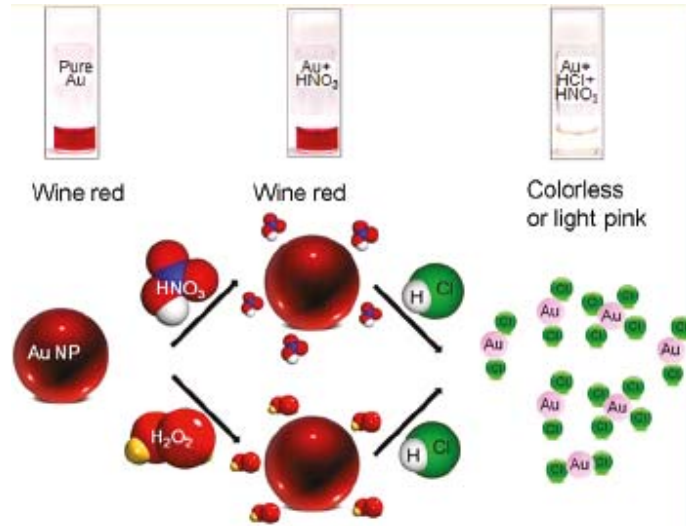
ผู้วิจัยได้พบงานวิจัย 2 งานวิจัย ซึ่งเป็นแนวคิดในการพัฒนาวิธีใหม่ในการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ซึ่งงานวิจัยแรก You Sang และคณะ [1] ได้พัฒนาวิธีสำหรับวิเคราะห์หา H_2O_2 โดยอาศัยการ Aggregation ของ gold nanoparticles (AuNPs) ซึ่ง AuNPs สามารถเสถียรอยู่ได้ใน single-stranded DNA (ss-DNA) ซึ่ง ss-DNA ช่วยป้องกันการ Aggregation ของ AuNPs อันเนื่องมาจากแรง electrostatic repulsion ทำให้สีของสารละลาย AuNPs มีสีแดง ดูดกลืนแสงที่ 520 nm แต่เมื่อมี H_2O_2 และมีการเติม Fe^{2+} (Fenton reagent) ลงในสารละลาย AuNPs ปฏิกิริยา Fenton ทำให้เกิด hydroxyl radical ($HO\cdot$) ซึ่งสามารถแยก ss-DNA ออกจาก AuNPs ได้ จึงทำให้ AuNP เกิดการ Aggregation ดังรูปที่ 2.1 สีของสารละลายของ AuNPs จึงเปลี่ยนจากสีแดงไปเป็นสีน้ำเงิน และเกิด Plasmon resonance band shift เปลี่ยนไป ดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 650 nm ซึ่งปริมาณของ H_2O_2 จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงที่ 520 nm และค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นที่ 650 nm



รูปที่ 2.1 แสดงกลไกในการเปลี่ยนแปลงสีของ AuNPs เมื่อมีและไม่มี H_2O_2

และอีกหนึ่งงานวิจัยคือ Suraj Kumar Tripathy และคณะ [2] ได้พัฒนาวิธีเพื่อใช้วิเคราะห์หาปริมาณ HCl โดยใช้ AuNPs และ H_2O_2 หรือ HNO_3 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (oxidizer) ในงานวิจัยนี้พบว่าถ้าหากเติม HCl และ oxidizer ลงไปเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา สีแดงของสารละลาย AuNPs จะเปลี่ยนไปเป็นสีชมพูหรือใส ดังรูปที่ 2.2 เทคนิคนี้จึงหาปริมาณ HCl ได้จากการติดตามการลดลงของสีแดง โดยปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น

คือ AuNPs ถูกออกซิไดซ์ให้กลายเป็นไอออน และไอออนของ Au ก็จับอยู่กับคลอไรด์ไอออน เกิดเป็นสารประกอบที่ไม่มีสี



รูปที่ 2.2 แสดงกลไกในการเปลี่ยนแปลงสีของ AuNPs เมื่อมีและไม่มี HCl และ oxidizer

ผู้วิจัยจึงแนวคิดที่จะพัฒนาวิธีใหม่ในการวิเคราะห์หาปริมาณ H₂O₂ โดยใช้ AgNPs เป็นตัวติดตาม ซึ่ง AgNPs อาจเกิดการ Aggregation หรือเกิดปฏิกิริยา oxidation เมื่อมี H₂O₂ ในปฏิกิริยา

2.2 สมบัติของอนุภาคระดับนาโน

"ที่ความเล็กระดับนาโนเมตร เราจะค้นพบแรงชนิดใหม่ๆ ปรากฏการณ์ใหม่ๆ และความเป็นไปได้รูปแบบใหม่ๆ" ข้อความดังกล่าวเป็นคำพูดของ ริชาร์ด ฟายน์แมน (Richard Feynman) ซึ่งเป็นบุคคลที่ได้รับการยกย่อง ให้เป็นบิดาของนาโนเทคโนโลยี ซึ่งเขาได้กล่าวไว้ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1959 ระหว่างการบรรยายทางวิชาการอันโด่งดัง เรื่อง "There's Plenty of Room at the Bottom" ณ สมาคมฟิสิกส์ สหรัฐอเมริกา จากคำพูดของฟายน์แมนดังกล่าว ทำให้เห็นอย่างชัดเจนว่าความสำคัญของนาโนศาสตร์ และนาโนเทคโนโลยี ไม่ได้จำกัดอยู่เพียงแค่ว่า การที่เราสามารถสร้างสิ่งต่างๆ ที่มีขนาดเล็กในระดับนาโนเมตร ได้อย่างถูกต้องและแม่นยำเท่านั้น แต่ยังรวมถึงการที่เราสามารถนำสมบัติใหม่ๆ และปรากฏการณ์ใหม่ๆ ที่เกิดขึ้นเฉพาะในระดับนาโนมาใช้ให้เป็นประโยชน์ได้อีกด้วย

วัสดุนาโนเป็นวัสดุที่ได้จากการสังเคราะห์หรือบดอนุภาคที่มีขนาดใหญ่ให้ละเอียดและมีขนาดเล็กในระดับนาโนเมตร รวมทั้งวัสดุที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นจากการจัดเรียงตัวของอะตอมหรือโมเลกุลเข้าด้วยกัน

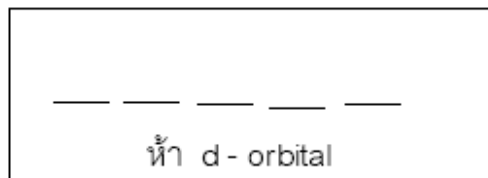
อย่างแม่นยำในช่วงขนาด 1-100 นาโนเมตร คุณสมบัติและพฤติกรรมต่างๆ เช่น การนำไฟฟ้า สมบัติเชิงกล สมบัติทางแม่เหล็ก จะแตกต่างกันไปจากวัสดุชนิดเดียวกันเมื่อมีขนาดใหญ่ขึ้น และเนื่องจากวัสดุนาโนถูกสังเคราะห์ขึ้นมาจากการจัดเรียงอะตอมหรือโมเลกุลเข้าด้วยกันอย่างถูกต้องและแม่นยำจึงทำให้วัสดุนาโนจัดเป็นวัสดุที่มีโครงสร้างสมบูรณ์แบบที่สุดและมีประสิทธิภาพสูงที่สุด

วัสดุนาโนสามารถแบ่งย่อยออกเป็น 5 ประเภทหลัก ได้แก่

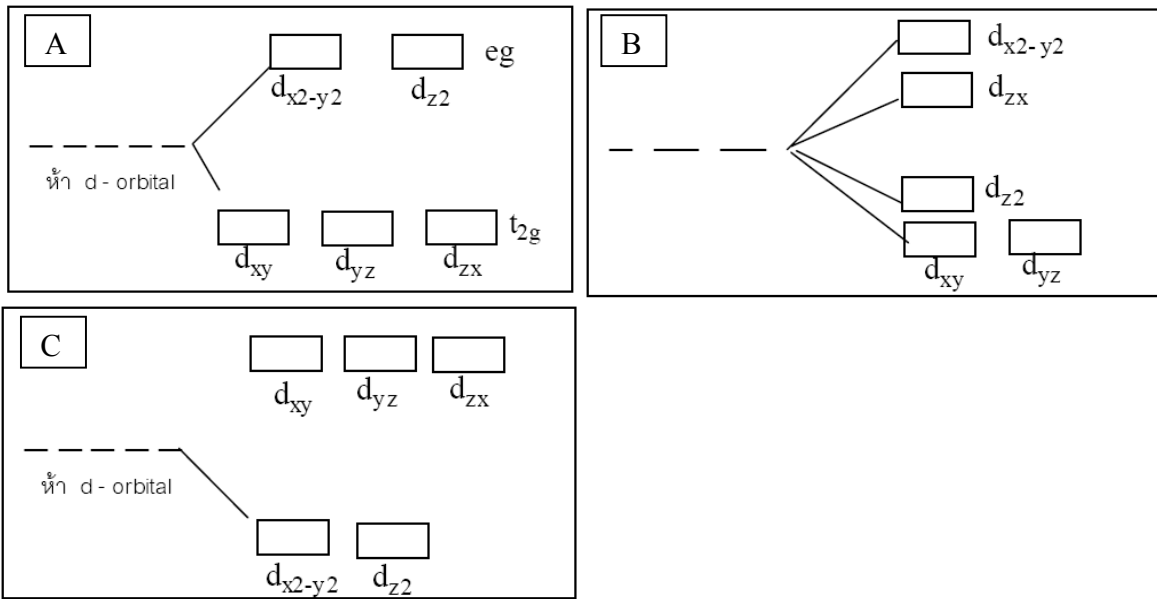
- (1) อนุภาคนาโน (nanoparticles) เช่น ไททาเนียมไดออกไซด์ นาโนซิลเวอร์ เป็นต้น
- (2) นาโนคอมโพสิต (nanocomposites) เช่น ท่อคาร์บอนนาโน เป็นต้น
- (3) ตัวเร่งปฏิกิริยานาโน (nanocatalysts) เช่น ซีโอไลต์ เป็นต้น
- (4) ฟิล์มบางนาโน (nano-thin film)
- (5) เส้นใยนาโน (nanofiber) โครงสร้างนาโน (nanostructures) ท่อนาโน (nanotubes) โพรงนาโน (nanopores) และหมุดควอนตัม (quantum dots) เป็นต้น

2.2.1 คุณสมบัติในการดูดกลืนแสงและสีที่เปลี่ยนแปลงไปตามขนาดของอนุภาคระดับนาโน

ปกติแล้วการที่สารประกอบหรือโมเลกุลของธาตุทรานซิชันมีสี สีของสารจะเกิดเนื่องจากการบรรจุอิเล็กตรอนให้กับออร์บิทัลทั้งห้าของ d-orbital ที่มีระดับพลังงานเท่ากันตามรูป

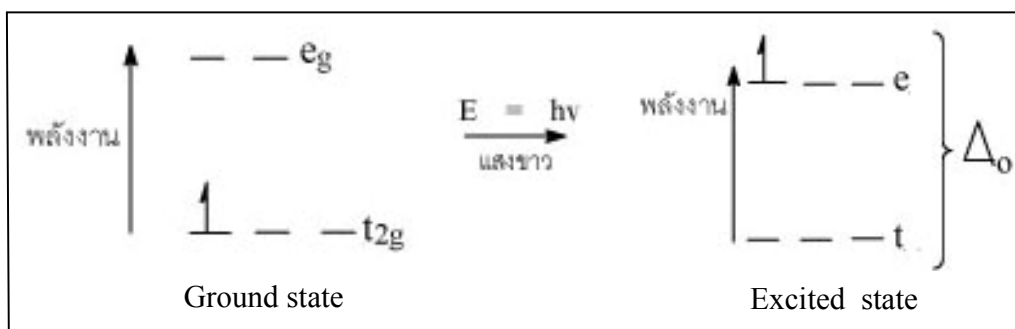


แต่เมื่อใช้ทฤษฎีที่เรียกว่า Crystal field มาอธิบายว่าด้วยโครงสร้างแบบ Octahedral tetrahedral และ Square planer โดยแบ่งระดับทั้งห้าของ d-orbital ตามรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 แสดงลักษณะการแยกออกของ d-orbital ใน A) โครงสร้างแบบ Octahedral B) โครงสร้างแบบ Tetrahedral C) โครงสร้างแบบ Square planar

เช่น 22 Ti มีอิเล็กตรอนคอนฟิเจอร์ชัน = $[18\text{Ar}] 3d^2 4s^2$ และ 22Ti^{3+} มีอิเล็กตรอนคอนฟิเจอร์ชัน = $[18\text{Ar}] 3d^1 4s^0$ หนึ่งอิเล็กตรอนใน 3d-orbital ของ Ti^{3+} ใน $[\text{Ti}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ บรรจุอยู่ในระดับพลังงานต่ำสุด t_{2g} ตามรูปที่ 2.4 เมื่อแสงขาวผ่านลงในสารละลาย ไอออนในสารละลายจะดูดกลืนรังสีของแสงขาวที่มีพลังงานเพียงพอที่จะให้อิเล็กตรอนจาก t_{2g} ขึ้นไปอยู่ในระดับพลังงาน e_g ได้



รูปที่ 2.4 การบรรจุอิเล็กตรอนของ Ti^{3+} ใน 3d-orbital ซึ่งมีโครงสร้างแบบ octahedral

รังสีของแสงที่ถูกดูดกลืนไปนั้นจะมีพลังงานมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับขนาดของ Δ_0 (delta) ระหว่างระดับพลังงานของ d -orbital ซึ่งของ Ti^{3+} ใน $[Ti(H_2O)_6]^{3+}$ (aq) ดูดกลืนรังสีที่มีความยาวคลื่น 510 nm (3.9×10^{-19} y/molecule) ซึ่งตรงกับแสงสีเขียวของสเปกตรัม เมื่อ $[Ti(H_2O)_6]^{3+}$ ดูดกลืนแสงสีเขียวไป ก็จะคายแสงที่เหลือออกมาเป็นสีม่วงแดง

เช่น โดยปกติแล้วเรามองเห็นทองคำมีสีเหลือง อันเนื่องมาจากทองคำดูดกลืนแสงสีน้ำเงิน ที่อยู่ในช่วงปลายของสเปกตรัมคลื่นแสงที่มองเห็นได้ แต่ถ้าย่อขนาดทองคำให้เล็กลงไปเรื่อยๆ จนมีขนาดอนุภาคเล็กกว่าความยาวคลื่นแสงที่มากกระทบมากๆ จะทำให้ปรากฏการณ์ที่เรียกว่า “เซอร์เฟซ พลาสมอน เรโซแนนซ์ (surface plasmon resonance, SPR)” ซึ่งจะทำให้อนุภาคทองคำเปลี่ยนไปดูดกลืนแสงสีเขียว (ความยาวคลื่นประมาณ 520 นาโนเมตร) แทน ซึ่งจะส่งผลให้อนุภาคนาโนของทองคำ มีสีแดงทับทิม (ruby red)

surface plasmon resonance (SPR) คือเมื่ออนุภาคของสารมีขนาดเล็กลงจะทำให้มีอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ผิวต่อปริมาตร (surface-to-volume) สูงมาก เมื่อเปรียบเทียบกับวัสดุชนิดเดียวกันที่มีขนาดใหญ่กว่า ทำให้อิเล็กตรอนส่วนมากอยู่ที่ผิวหน้าจึงสามารถถูกกระตุ้นได้ง่ายขึ้น สเปกตรัมที่ดูดกลืนจึงมีความยาวคลื่นยาวขึ้น เมื่ออนุภาคนาโนมีขนาดใหญ่ขึ้นปริมาณพื้นที่ผิวต่อปริมาตรก็ลดลง อิเล็กตรอนที่ผิวหน้าก็ลดลง ทำให้ถูกกระตุ้นได้ยากมากขึ้น สเปกตรัมที่ดูดกลืนก็เปลี่ยนแปลงไป

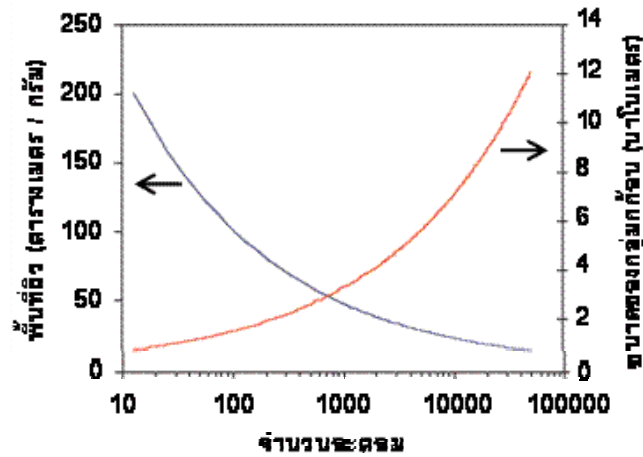
ดังนั้นแล้วเมื่อวัสดุมีขนาดเกรนของวัสดุอยู่ในระดับนาโนเมตรแล้ว คุณสมบัติอย่างหนึ่งที่เกิดขึ้นผิดแปลกไปจากเดิม ก็คือช่วงสเปกตรัมที่ถูกดูดกลืนของวัสดุนาโน โดยช่วงความยาวคลื่นของแถบดูดกลืนของวัสดุนาโนจะเป็นช่วงความยาวคลื่นที่สั้นลงกว่าเดิม (คือมีแนวโน้มไปสู่ช่วง แถบสเปกตรัมสีน้ำเงิน) และพบว่าช่วงความยาวคลื่นที่ถูกดูดกลืนนี้แปรผันตรงตามขนาดของวัสดุนาโน ตัวอย่างเช่น อนุภาคนาโนของสารกึ่งตัวนำแคดเมียมซัลไฟด์ (CdSe) จะมีช่วงสเปกตรัมที่ถูกดูดกลืนที่สั้นลงไปเรื่อยๆ ตามขนาดรัศมีของอนุภาคนาโน เป็นต้น

2.2.2 ความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยาที่เปลี่ยนแปลงไป

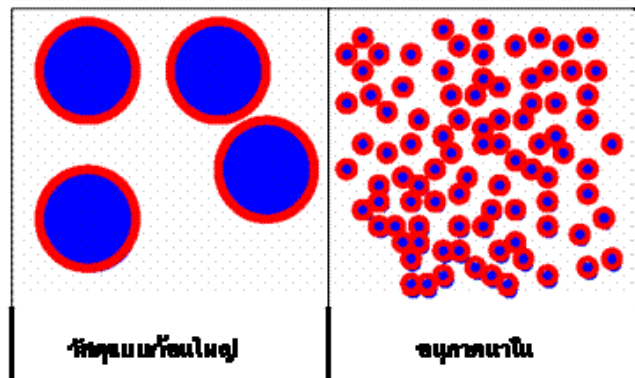
วัสดุที่มีขนาดในระดับนาโนเมตรจะมีอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ผิวต่อปริมาตรสูงมาก เมื่อเปรียบเทียบกับวัสดุชนิดเดียวกันที่มีขนาดใหญ่กว่า ดังที่แสดงในรูปที่ 2.5 ตัวอย่างเช่น อนุภาคนาโนของธาตุทองคำ ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 นาโนเมตร จะมีพื้นที่ผิวของอนุภาคสูงถึง 150 ตารางเมตรต่อกรัม ด้วยเหตุนี้จึงทำให้วัสดุที่มีขนาดระดับนาโนจะมีจำนวนอะตอมที่อยู่บริเวณผิวหน้าสูงมาก ส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาเคมีบนพื้นผิวหน้าวัสดุได้ง่ายมากขึ้น และยังเอื้อต่อการเกิดปรากฏการณ์ต่างๆ อันเนื่องมาจากความเร็วต่อการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีของบริเวณผิวหน้าของวัสดุ ตัวอย่างเช่น ธาตุทองคำที่ปกติจะเฉื่อยชาต่อการเกิดปฏิกิริยา

เคมี แต่เมื่ออนุภาคมีขนาดเล็กในระดับนาโนเมตรแล้ว กลับมีคุณสมบัติเปลี่ยนไปเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเคมีได้ดี

A



B



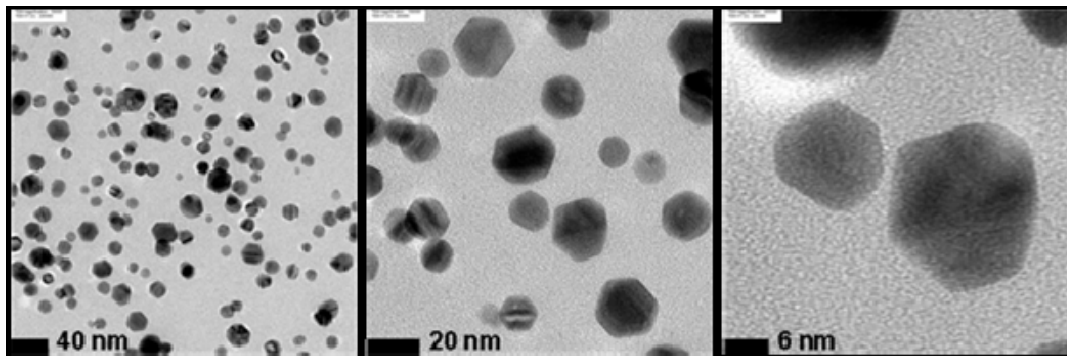
รูปที่ 2.5 (A) แสดงการประมาณจำนวนอะตอมและพื้นที่ผิวของอนุภาคทองคำนาโนที่มีขนาดแตกต่างกัน (B) เปรียบเทียบจำนวนอะตอมผิวหน้า (สีแดง) ของวัสดุขนาดปกติกับอนุภาคที่มีขนาดในระดับนาโน

การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีของวัสดุ เมื่อวัสดุมีปริมาณอะตอมผิวหน้ามากขึ้น อาจมีสาเหตุมาจากอิทธิพลอิเล็กทรอนิกส์และอิทธิพลสเตอริก (electronic and steric effects) โดยที่อิทธิพลอิเล็กทรอนิกส์ (electronic effect) จะเกี่ยวข้องกับความหนาแน่นของอิเล็กตรอนที่บริเวณศูนย์กลางปฏิกิริยา (reaction center) เช่นการเกิดประจุบวกหรือประจุลบขึ้น ส่วนอิทธิพลสเตอริก (steric effect) จะเกี่ยวข้องกับลักษณะรูปร่างและความเกะกะภายในโครงสร้าง ทำให้อนุภาคนาโนมีความว่องไวในการทำปฏิกิริยาเคมีต่างๆมาก โดยเฉพาะการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ยก ตัวอย่างเช่น ในกรณีของสารโลหะบางชนิด ซึ่งปกติ

แล้วมักจะมีชั้นผิววนอกสุด เป็นสารประกอบออกไซด์ ที่มีความหนาอย่างน้อยหลายไมโครเมตร ดังนั้นถ้านำสารโลหะชนิดเดียวกันนี้มาสังเคราะห์เป็นโครงสร้างในระดับนาโนเมตร ก็จะทำให้โครงสร้างนาโนของโลหะชนิดนี้เกิด ปฏิกริยาออกซิเดชันทั้งโครงสร้าง ดังนั้นจึงไม่มีปัญหาในการนำอนุภาคนาโน หรือฟิล์มบางนาโนที่เป็นสารประกอบออกไซด์หรือซิลิเกตไปใช้ประโยชน์ เพราะว่าทุกส่วนของโครงสร้างนาโนเหล่านี้ล้วนแล้วแต่ทำปฏิกิริยากับออกซิเจนในอากาศไปเรียบร้อยแล้วทั้งสิ้น ตัวอย่างการนำโครงสร้างนาโน ที่เป็นสารประกอบออกไซด์ไปใช้ประโยชน์ได้แก่ การใช้เป็นส่วนผสมของครีมกันแดด (ZnO , TiO_2) การใช้เป็นวัสดุสำหรับอุตสาหกรรมแผ่นเวเฟอร์ซิลิกอน ใช้เป็นฟิลเลอร์ (filler) สำหรับพอลิเมอร์และใช้เคลือบผิวหน้าของวัสดุต่างๆ ให้กลายเป็นวัสดุทำความสะอาดตัวเอง เป็นต้น แต่ในทางกลับกัน ถ้าต้องการให้โครงสร้างนาโนเหล่านี้สามารถนำไฟฟ้าได้ หรือต้องการนำโครงสร้างนาโน ไปเชื่อมติดกับโมเลกุลสารอินทรีย์ที่ซับซ้อนชนิดต่างๆ ก็จำเป็นต้องหาวิธีการที่ป้องกัน ไม่ให้ผิวหน้าของโครงสร้างนาโนเหล่านี้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ยกตัวอย่างเช่นการปกป้องผิวหน้า ของโครงสร้างนาโนที่เป็นสารประกอบซิลิเกต ด้วยการเคลือบด้วยฟิล์มที่เป็นชั้นโมเลกุลไฮโดรเจน

2.3 สมบัติของอนุภาคเงินระดับนาโน

2.3.1 ลักษณะเฉพาะอนุภาคเงินระดับนาโน



รูปที่ 2.6 High Resolution Transmission Electron Microscope (HRTEM) Images ของอนุภาคเงินระดับนาโน (Silver Nanoparticles)

1. อนุภาคเงินระดับนาโน (Silver Nanoparticle) ขนาด 5–40 นาโนเมตร ความเข้มข้นสูง (1,000 – 10,000 ส่วนในล้านส่วน) แขนงลอยอยู่ในน้ำ มี Biocompatible Stabilizer ช่วยให้อนุภาคนาโนของเงินไม่ตกตะกอน และ/หรือ ไม่รวมตัวกันเป็นอนุภาคขนาดใหญ่ขึ้น

2. อนุภาคเงินระดับนาโนมีประสิทธิภาพสูงสุดในการกำจัดแบคทีเรีย เชื้อรา และไวรัส เนื่องจากมีอัตราส่วน พื้นผิวต่อน้ำหนักที่สูงมาก และพื้นผิวไม่ได้ถูกปกป้องโดย Surfactant หรือ Capping Agent

3. คอลลอยด์น้ำของอนุภาคเงินระดับนาโน สามารถละลายและกระจายตัวได้ดีในของเหลวที่มีตัวทำละลาย เป็นน้ำ หรือ สารอินทรีย์ที่มีขี้

4. ที่ความเข้มข้นสูงมากกว่า 1000 ส่วนในล้านส่วน คอลลอยด์อนุภาคเงินระดับนาโนจะมีสีน้ำตาลเข้ม และ เปลี่ยนเป็นสีเหลืองใสเมื่อทำให้เจือจางและมีความเข้มข้นต่ำกว่า 50 ส่วนในล้านส่วน

2.3.2 จุดเด่นหรือข้อดีของอนุภาคเงินระดับนาโน (ADVANTAGES)

1. คอลลอยด์น้ำอนุภาคเงินระดับนาโนความเข้มข้นสูง 1,000 – 100,000 ส่วนในล้านส่วน (0.1 – 10% wt./vol.) มีความเสถียรสูง สามารถเก็บไว้ได้นานมากกว่า 6 เดือน ที่อุณหภูมิห้อง ความดันบรรยากาศ โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงทั้งขนาดและรูปร่างของอนุภาค

2. มี Stabilizer ที่มีสมบัติ Biocompatible ทำให้สามารถนำไปใช้กับเครื่องสำอางและบรรจุภัณฑ์สำหรับ อาหาร ได้ทันทีโดยไม่ต้องมีการปรับปรุงหรือทำปฏิกิริยาเพิ่มเติมใดๆ

3. คอลลอยด์น้ำของอนุภาคเงินระดับนาโนนี้ใช้งานได้ง่าย โดยไม่ต้องมีการปรับปรุงหรือเปลี่ยนแปลงระบบ การทำงานของกระบวนการผลิต เพียงใช้คอลลอยด์น้ำอนุภาคเงินระดับนาโนเป็นสาร เติมแต่ง (Additive) เท่านั้น

4. สมบัติทางฟิสิกส์และสมบัติทางเคมีของอนุภาคเงินระดับนาโนในคอลลอยด์ เช่น ขนาด รูปร่าง ความ เข้มข้น และสมบัติเชิงพื้นผิวนั้นทราบแน่นอน ทำให้สามารถออกแบบและควบคุมสมบัติของผลิตภัณฑ์ ได้อย่างแม่นยำ

5. อนุภาคเงินระดับนาโนมีความปลอดภัยสูง และไม่เป็นพิษ ความเข้มข้นที่ใช้ในการกำจัดแบคทีเรีย นั้นต่ำ มากเมื่อเทียบกับยาปฏิชีวนะ

6. อนุภาคเงินระดับนาโนมีกลไกในการกำจัดแบคทีเรียที่ซับซ้อน และมีการทำงานหลายกลไกพร้อมๆ กัน จึงไม่ก่อให้เกิดการต่อต้านเชื้อเหมือนในกรณีของยาปฏิชีวนะ

7. ใช้เป็นเซนเซอร์สำหรับงานวิจัยด้านชีวภาพและด้านเคมีได้โดยไม่ต้องปรับแต่งพื้นผิวหน้า และมีราคาถูก

2.3.3 การประยุกต์ใช้งาน (POTENTIAL APPLICATIONS)

1. เทคโนโลยีคอลลอยด์น้ำของอนุภาคเงินระดับนาโนเป็นเทคโนโลยีต้นน้ำ ที่ผลิตสารตั้งต้นอนุภาคเงินระดับนาโนสำหรับที่เป็นส่วนประกอบหลักของการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่ต้องการเพิ่มหรือทำให้มี

สมบัติยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย เชื้อรา และ ไวรัส รวมไปถึงการทำให้ผลิตภัณฑ์ปลอดเชื้ออุตสาหกรรมที่สามารถใช้ประโยชน์จากสมบัติพิเศษของอนุภาคเงินระดับนาโนเช่น สิ่งทอ ก่อสร้าง บรรจุภัณฑ์ เฟอร์นิเจอร์ สุขภัณฑ์ เครื่องประดับ อาหาร การแพทย์ และ ฯลฯ

2. อนุภาคเงินระดับนาโนนิยมใช้เป็นเซนเซอร์ สำหรับงานวิจัยด้านชีวภาพและเคมี เนื่องจากการใช้งานไม่ยุ่งยาก สัมผัสได้ง่าย และราคาไม่แพง

3. ใช้เป็นส่วนผสมในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่ต้องการสมบัติการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย เชื้อรา และ ไวรัส

4. ใช้เป็นส่วนผสมสำหรับเคลือบพื้นผิวผลิตภัณฑ์ที่ต้องการสมบัติการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย เชื้อรา และ ไวรัส

2.4 การนำอนุภาคเงินระดับนาโนนำไปประยุกต์ใช้ในงานด้านเคมีวิเคราะห์

Hong Ping และคณะ[3] ได้พัฒนาวิธีการตรวจวัดปริมาณเมลามีนโดยใช้ AgNPs เป็นขั้ว (probe) หรือเซนเซอร์สี และตรวจวัดด้วยเทคนิค UV-vis spectroscopy ซึ่งวิธีที่พัฒนาขึ้นใหม่นี้เป็นวิธีที่ง่าย รวดเร็ว ประหยัด และเหมาะสมสำหรับการใช้ในภาคสนาม โดยอาศัยการเปลี่ยนแปลงสีของ AgNPs สำหรับการคัดกรองเมลามีน โดยอาศัยขนาดหรือระยะห่างระหว่างอนุภาคที่แตกต่างกัน แล้วทำให้ได้สเปกตรัมการดูดกลืนแสง (absorption spectrum) และสีของสารละลายที่แตกต่างกันด้วย เมื่อ AgNPs เข้าใกล้กัน หรือเรียกว่าเกิดการ Aggregation สีของ AgNPs จะเปลี่ยนจากสีเหลืองไปเป็นสีแดงหรือสีเขียวคล้ำ ซึ่งเป็นผลมาจากการเลื่อนของ surface Plasmon band ไปยังความยาวคลื่นที่ยาว เมื่อเติมเมลามีนลงในสารละลาย label – free AgNPs จะสามารถสังเกตเห็นสีที่เปลี่ยนไปจากสีเหลืองไปเป็นสีแดงได้อย่างชัดเจน เทคนิคนี้สามารถตรวจ วัดเมลามีนในน้ำนมดิบได้โดยการตรวจสอบด้วยตาเปล่า หรือใช้เทคนิค UV-vis spectroscopy ที่อุณหภูมิห้อง กระบวนการตรวจสอบทั้งหมดเสร็จสมบูรณ์ภายใน 30 นาที ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดเมลามีน (LOD) คือ 2.32 μM (\approx 0.29 mg/L) ซึ่งเป็นค่าที่ต่ำกว่าปริมาณปลอดภัยในการนำเข้าสู่ร่างกายที่ถูกกำหนดไว้ (2.5 ppm ใน USA และ EU และ 1 ppm สำหรับผลิตภัณฑ์อาหารสำหรับทารกในประเทศจีน) และมีค่า LOD ต่ำกว่าค่า LOD ที่ได้จากเทคนิคอื่นๆ นอกจากนี้ เทคนิคการทดสอบสีที่นำเสนอนี้สะดวกกว่า Kjeldahl และ Dumas test ดังนั้นจึงสามารถตรวจวัดเมลามีนในน้ำนมดิบได้อย่างรวดเร็ว

Wiphawee Leesutthiphonchai และคณะ [4] ได้พัฒนาวิธีการที่จำเพาะสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณโฮโมซิสเตอีน (Homocysteine : Hcy) ในตัวอย่างเลือด โดยใช้ AgNPs เป็นตัวเซนเซอร์สี และตรวจวัดด้วยเทคนิค UV-vis spectroscopy ซึ่งผู้วิจัยได้ศึกษา Hcy ร่วมกับกรดอะมิโนอีก 5 ชนิดได้แก่ Cys, Glutathione,

Methionine, Histidine และ Alanine โดยจะอาศัยความสามารถในการเหนี่ยวนำให้ AgNPs เกิดการรวมตัวกัน (aggregation) ทางจลนศาสตร์ที่แตกต่างกันของ Hcy และกรดอะมิโนอีก 5 ชนิด ซึ่งเกิดการเลื่อนตำแหน่งของสเปกตรัมการดูดกลืนในช่วง visible วิธีนี้ให้ความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัด Hcy อยู่ในช่วง 2 – 12 μM ($R^2 = 0.9936$) ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ (LOQ) คือ 0.5 μM และ 1.7 μM ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับค่าที่วิเคราะห์ได้จากวิธีใหม่กับเทคนิค Chemiluminescent Microparticle Immunoassay (CMIA) พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จากผลการทดลอง พบว่าวิธีวิเคราะห์ที่ได้นำเสนอนี้มีความเลือกจำเพาะ (selectivity) ที่ดี มีขั้นตอนการวิเคราะห์ที่ง่าย สะดวก รวดเร็ว และราคาไม่แพง

Sadanand Pandey, Gopal K. Goswami และ Karuna K. Nanda [5] ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนีย (Ammonia : NH_3) โดยใช้ AgNPs เป็นตัวเซนเซอร์สี และตรวจวัดด้วยเทคนิค UV-vis spectroscopy เนื่องจากมีการใช้ NH_3 กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรม ซึ่ง NH_3 เป็นอันตรายต่อร่างกายของมนุษย์และสัตว์ จึงต้องมีการตรวจวัดและควบคุมปริมาณ NH_3 ที่อาจรั่วไหลออกมาจากกระบวนการผลิตในอุตสาหกรรม เพื่อเป็นการป้องกันผู้ผลิตและชุมชนรอบข้าง ในงานวิจัยนี้จึงได้นำเสนอการตรวจวัดสารละลาย NH_3 โดยใช้ Ag NPs เป็นตัวเซนเซอร์สี โดยอาศัยการเปลี่ยนแปลง surface plasmon resonance (SPR) ของ AgNPs เมื่อมีสารละลาย NH_3 และตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงด้วยเทคนิค UV-vis spectroscopy ซึ่งผู้วิจัยได้สังเคราะห์ AgNPs โดยใช้ polysaccharide *Cyamopsis tetragonaloba* หรือเป็นที่รู้จักกันในนามของ guar gum (GG) จากพืชมาเป็นตัวรีดิวซ์ ในขั้นตอนการเตรียม AgNPs ซึ่งพบว่าได้ขนาด AgNPs น้อยกว่า 10 นาโนเมตร และเป็นวิธีการเตรียม AgNPs ที่ไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และเทคนิคใหม่นี้สามารถวิเคราะห์ NH_3 เสร็จภายในเวลา 3 วินาที และให้ค่า LOD เท่ากับ 1 ppm สามารถนำไปใช้วิเคราะห์หาปริมาณ NH_3 ในตัวอย่างของเหลวทางชีวภาพได้ เช่น เลือด เหงื่อ น้ำลาย ของเหลวในสมองและไขสันหลัง หรือตัวอย่างทางชีวภาพด้านการแพทย์ทั่วไป

Zeid Abdullah Alothman และคณะ [6] ได้พัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณ fexofenadine hydrochloride (FEX) ในตัวอย่างยา โดยใช้ AgNPs เป็น fluorescence probe ซึ่ง FEX เป็นส่วนประกอบสำคัญในยา antihistamine ซึ่งใช้ในการโรคเยื่อจมูกอักเสบที่เกิดจากโรคภูมิแพ้เรื้อรังและการแพ้ตามฤดูกาล ก่อนหน้านี้เทคนิคที่ใช้วิเคราะห์ FEX ส่วนใหญ่เป็น HPLC และ HPLC-MS ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้เวลาในการแยกนาน ใช้ปริมาณตัวอย่างมาก ใช้ต้นทุนทางบุคลากรสูง และเครื่องมือที่ใช้มีราคาแพง ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้พัฒนาวิธีการหาปริมาณ FEX โดยใช้ AgNPs เป็น fluorescence probe โดยอาศัยการลดลงหรือ quenching ของสเปกตรัมการคายแสง (emission band) ของสารละลาย AgNPs เมื่อเติม FEX ลงไป และตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงด้วยเทคนิค Spectrofluorimetry ซึ่งเป็นผลมาจากการเกิดเป็นสารเชิงซ้อน (complex) ระหว่าง

FEX และ AgNPs หรืออาจเรียกว่า FEX เป็น quencher ซึ่งการเกิด quenching ของ FEX บนสเปกตรัมการคายแสงของ AgNPs นั้นถูกอธิบายด้วยกฎของ Stern–Volmer AgNPs ถูกเตรียมได้จากการรีดิวซ์ AgNO_3 ด้วย NaBH_4 ในสารละลายที่ละลายด้วยน้ำ โดยไม่ต้องมีการเติมสาร organic stabilizers โดย AgNPs จะเสถียรอยู่ได้และให้ emission spectrum ที่แคบ ภายใต้สภาวะการทดลองที่เหมาะสม เทคนิคนี้ให้ความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัด FEX ในช่วงความเข้มข้น 1×10^{-7} ถึง $2.5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ และให้ค่า LOD เท่ากับ $1.2 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ วิธีที่พัฒนาขึ้นนี้เป็นวิธีที่ง่าย รวดเร็ว และว่องไวสามารถนำไปวิเคราะห์ FEX ในตัวอย่างยา โดยไม่จำเป็นต้องทำการแยกสารใดๆ และสามารถนำไปประยุกต์ใช้วิเคราะห์ FEX ในตัวอย่างของเหลวทางชีวภาพ เช่น ตัวอย่างเลือดสามารถเตรียมตัวอย่างโดยการกำจัดโปรตีนและสารรบกวนโดยการตกตะกอนด้วย acetonitrile และสามารถวิเคราะห์ FEX ในตัวอย่างปัสสาวะได้โดยตรง แต่ต้องทำการเจือจางตัวอย่างสูงๆ

S. Gunduz , S. Akman , A. Baysal , M. Kahraman [7] ได้พัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณสารหนู (arsenic: As) และพลวง (antimony: Sb) ในสารละลาย NaCl หรือ Na_2SO_4 และในน้ำทะเล โดยใช้ AgNPs เป็นตัว modifier ที่วิเคราะห์ด้วยเทคนิค electrothermal atomic absorption spectrometry (ETAAS) ซึ่งสาร modifier เป็นสิ่งสำคัญสำหรับเทคนิค ETAAS เพราะสาร modified จะทำให้เกิดปฏิกิริยาดังนี้ (i) เปลี่ยนเมทริกซ์ให้ระเหยออกไปจากตัวอย่างหรือกลายเป็นรูปที่ไม่รบกวนการวิเคราะห์ (ii) ไม่เกิดเป็นสารประกอบที่ระเหยได้กับ analyte (iii) สามารถป้องกันไม่ให้ analyte ถูกกำจัดด้วยเตาเผา

การมี silver อยู่ในเตาเผาแกรไฟต์ทำให้มีความเสถียรทางความร้อนของสารที่จะระเหยนำไปสู่การได้ pyrolysis temperature ที่สูงขึ้น นอกจากนี้ AgNO_3 ก็เคยถูกใช้เป็น modifier สำหรับการวิเคราะห์ cadmium ในอัลลอยด์ของนิกเกิล ซึ่งทำให้ pyrolysis temperature สูงขึ้น 100°C ส่งผลให้สามารถลดค่าการดูดกลืนที่ไม่จำเพาะจากเมทริกซ์ของอัลลอยด์ นอกจากนี้ AgNO_3 มีความว่องไวสูงต่อ As ในน้ำทะเลที่ทำขึ้นเอง รูปแบบทางเคมีของสาร modifier ส่งผลต่อความเสถียรของสารที่สนใจอย่างมาก เช่น แม้ว่า นิกเกิลในรูปของไนเตรตจะเป็นสาร modifier ที่มีประสิทธิภาพ โดยเฉพาะต่อโลหะ แต่ Nickel chloride เป็นตัวรบกวนที่ทำให้เกิดการสูญเสียความว่องไวอย่างมาก ทำให้ AgNPs อาจเป็นสาร modifier ได้ดีกว่า AgNO_3 ด้วยเหตุผลที่ว่า AgNO_3 อาจเกิดปฏิกิริยากับเมทริกซ์ในตัวอย่าง เช่น คลอไรด์ไอออนได้ ซึ่งก่อให้เกิดการรบกวนการวิเคราะห์ แต่ AgNPs ซึ่งเป็น Ag^0 จะไม่เกิดปฏิกิริยากับเมทริกซ์ในตัวอย่าง ซึ่งจากการทดลองพบว่า AgNPs เป็น modifier สำหรับการวิเคราะห์ As และ Pb ในเมทริกซ์ต่างๆ (สารละลาย NaCl , Na_2SO_4 และในน้ำทะเล) ให้ pyrolysis temperature ในช่วง $1100 - 1600^\circ\text{C}$ และ $900 - 1300^\circ\text{C}$ ตามลำดับ ข้อดีของ AgNPs modifier คือ background มีค่าต่ำ สัญญาณจาก blank มีค่าต่ำ และราคาไม่แพง แต่กำลังในการรักษาความเสถียรไม่ได้ดีไปกว่า modifier ตัวเดิม

2.5 ระบบการไหล (Flow Injection Analysis; FIA)

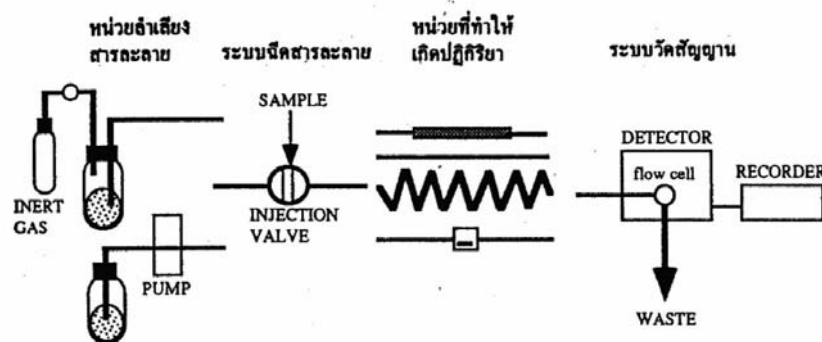
2.5.1 หลักการของ FIA

FIA มีหลักการพื้นฐานจากการฉีดสารละลายตัวอย่างเข้าสู่กระแสพาหะ (carrier stream) ซึ่งมีการไหลตลอดเวลา สารละลายตัวอย่างจะเกิดเป็นโซนขึ้นภายในท่อลำเลียง อาจมีกระบวนการต่างๆ ทางกายภาพ และทางเคมีบางอย่างก่อนถูกพาไปยังระบบตรวจวัดสัญญาณ (detection system) ที่สามารถบันทึกสัญญาณได้อย่างต่อเนื่อง หลักการที่สำคัญของ FIA สรุปได้เป็น 4 ข้อดังนี้

- (1) ในระบบจะไม่มีฟองอากาศเข้ามาเกี่ยวข้องกับจัดเป็น unsegmented - flow method ซึ่งถือว่าเป็นข้อแตกต่างจาก segmented - flow method ที่สำคัญ
- (2) สารละลายตัวอย่างจะถูกฉีดหรือสอดแทรกเข้าสู่กระแสของพาหะโดยตรง
- (3) การกระจาย (dispersion) ของสารละลายตัวอย่างจะถูกควบคุมโดยระบบทั้งหมด โดยที่ระบบไม่จำเป็นต้องเข้าสู่สมดุลใดๆ ทั้งสิ้น
- (4) การทำงานของระบบจะถูกควบคุมให้ใช้ช่วงเวลาที่เท่ากันตลอด ซึ่งหมายความว่าตั้งแต่ฉีดสารละลายตัวอย่างจนถึงการบันทึกสัญญาณจะใช้เวลาเท่ากันทุกครั้ง ทำให้ผลที่ได้มีความแม่นยำสูง

2.5.2 เครื่องมือพื้นฐานของระบบ FIA

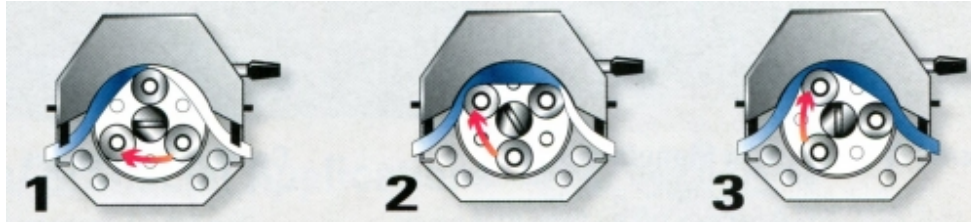
ระบบ FIA สามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ส่วน แสดงดังรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.7 แสดงส่วนประกอบของระบบ FIA

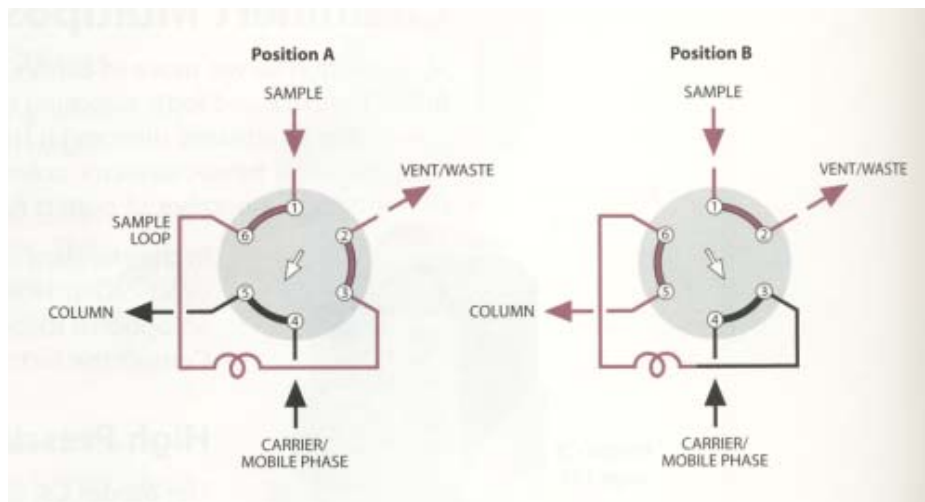
- (1) หน่วยลำเลียงสารละลาย (Propelling unit) เป็นหน่วยซึ่งสามารถลำเลียงสารละลายตั้งแต่หนึ่งสารละลายขึ้นไป การลำเลียงต้องให้มีอัตราการไหลที่คงที่ตลอดการทดลอง ซึ่งในการปฏิบัติจะใช้ peristaltic pump หรือใช้ระบบความดันของแก๊ส แต่ที่นิยมกันอย่างแพร่หลาย ได้แก่ peristaltic pump ซึ่งปั๊มชนิดนี้จะ

ประกอบด้วยชุดของตัวหมุน (rotors) ซึ่งสามารถควบคุมให้มีความเร็วคงที่หมุนบีบสายยาง (pump tube) ทำให้สารละลายถูกลำเลียงไปได้ตามทิศทางการหมุนของตัวหมุน ดังแสดงในรูปที่ 2.8 โดยที่สายยางที่ใช้จำเป็นต้องเลือกให้เหมาะสมกับสารละลายหรือตัวทำละลายที่จะถูกลำเลียง



รูปที่ 2.8 แสดงการทำงานของ Peristaltic pump

(2) ระบบฉีดสารละลาย (Injection system) เป็นระบบที่ใช้ฉีดสารละลายตัวอย่างเข้าสู่ระบบ FIA โดยที่สามารถควบคุมให้การฉีดแต่ละครั้งให้มีปริมาตรเท่ากันตลอดการทดลอง ในปัจจุบันจะใช้วิธีการสอดแทรกแทนการฉีดและเครื่องมือที่นิยมใช้ ได้แก่ rotary valve ซึ่งการทำงานของ six – port injection valve แสดงดังรูปที่ 2.9

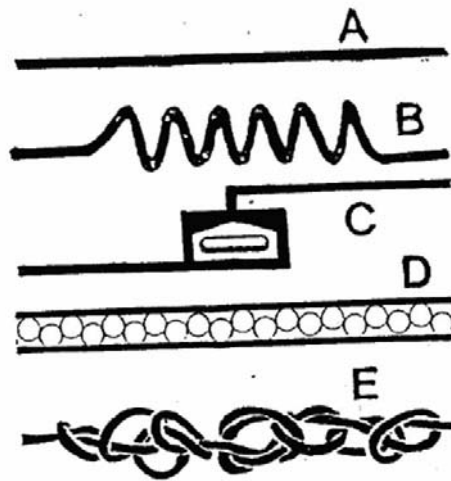


รูปที่ 2.9 แสดงการทำงานของ six – port injection valve

(3) หน่วยที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาต่างๆ และอาจรวมถึงกระบวนการต่างๆที่เดิมเข้าไปในระบบ (Reaction zone and additional process) ในหน่วยนี้ประกอบด้วยสายลำเลียงสารละลายต่างๆ ซึ่งอาจทำด้วยแก้วหรือพลาสติกที่ทนต่อสารเคมีต่างๆ เช่น PTFE tubing ซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5-0.8 mm i.d . เป็นต้น

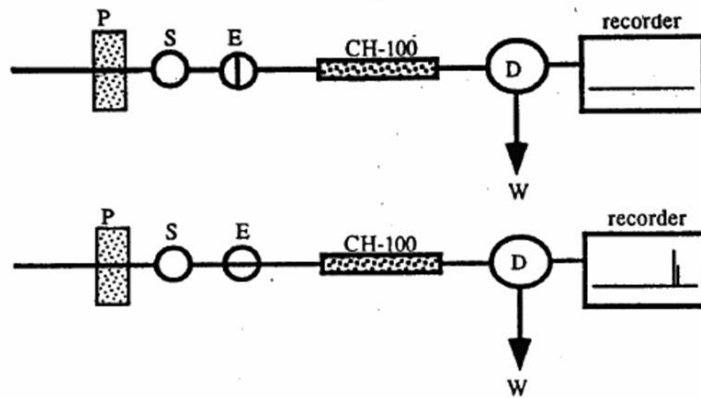
ส่วนข้อต่อจะมีหลายรูปแบบ เช่น ข้อต่อ 2 ทาง ข้อต่อ 3 ทาง และข้อต่อ 4 ทาง ซึ่งขึ้นอยู่กับลักษณะการใช้งาน รูปแบบของสายลำเลียงที่ต้องการให้มีการเกิดปฏิกิริยาในสายนั้น มีทำให้หลายแบบ ดังแสดงในรูปที่ 2.10 ส่วนกระบวนการอื่นที่เติมเข้าไปในระบบ เช่น mini - column ใช้ในกรณีที่มีการ preconcentration แสดงดังรูปที่ 2.11 หรือ phase separator ใช้ในกรณีที่มีการสกัด แสดงดังรูปที่ 2.12

(4) หน่วยวัดสัญญาณ (Sensing system หรือ Detection system) เป็นหน่วยที่วัดสัญญาณจากสารตัวอย่างที่เราสนใจ detection limit ที่ใช้ในระบบ FIA มีหลายรูปแบบ การเลือกใช้จะขึ้นกับธรรมชาติของปฏิกิริยาของระบบที่กำลังศึกษา โดยทั่วไปพบว่าเครื่องมือที่ใช้ในเคมีวิเคราะห์เกือบทุกชนิดสามารถนำมาใช้เป็น detection system ใน FIA ได้เช่น spectrophotometer, spectrofluorometer, atomic absorption spectrometer, ICP และเครื่องมือทางด้านไฟฟ้าเคมีบางชนิด เป็นต้น



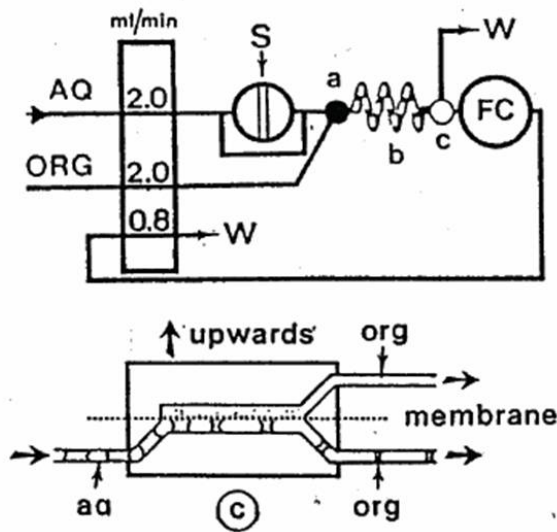
A = Straight open tube B = Coil tube C = Mixing chamber
D = Single - bead string reactor (SBSR) E = Knitted reactor

รูปที่ 2.10 แสดงรูปแบบต่างๆ ของ reactors



P = Pump S = Sample E = Eluent
 CH-100 = Chelex-100 D = Detector W = Waste

รูปที่ 2.11 แสดงการใช้ mini - column ในการ pre-concentration ในระบบ FIA



S = Sample A = Segmentor b = Extraction coil
 C = Membrane phase separator FC = flow cell
 W = Waste AQ = Aqueous phase ORG = Organic phase

รูปที่ 2.12 แสดงการใช้ phase separator ในการสกัดในระบบ FIA

2.6 วิธีดั้งเดิมที่ใช้วิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

2.6.1 เทคนิค gas chromatography

Hui-Chao Hu, Hui-Jun Jin และ Xin-Sheng Chai [8] ได้พัฒนาวิธี headspace gas chromatography (HS-GC) สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 โดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยาระหว่าง H_2O_2 และ Permanganate ในสารละลายกรด ภายใน headspace sample vial ที่ $60^{\circ}C$ เป็นเวลา 10 นาทีพร้อมกับเขย่า หลังจากนั้น ออกซิเจนที่เกิดจากปฏิกิริยาซึ่งอยู่ในส่วน headspace ของ vial จะถูกเก็บไปฉีดเข้าเครื่อง GC โดยอัตโนมัติ และตรวจวัดด้วย thermal conductivity detector เทคนิคนี้เป็นเทคนิคที่ง่าย รวดเร็ว ว่องไว เป็นระบบอัตโนมัติ และถูกนำไปใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 ในผลิตภัณฑ์ฟอกฟันขาว โดยให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด H_2O_2 ในช่วงความเข้มข้น 1-100 μmol ซึ่งมีค่า LOD เท่ากับ 0.96 μmol และให้ recovery ในช่วง 98-103 เปอร์เซ็นต์

เทคนิค GC ไม่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 ได้โดยตรง เนื่องจาก H_2O_2 เกิดการสลายตัวเมื่อได้รับความร้อน จึงจำเป็นต้องหา H_2O_2 โดยทางอ้อม เช่น ตรวจวัดปริมาณ O_2 ที่ได้จากการสลายตัวของ H_2O_2 เทคนิคนี้ใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน ทำให้ไม่สะดวกในการวิเคราะห์สารตัวอย่างหลายๆ เครื่องมือที่ใช้มีราคาแพง และยากต่อการวิเคราะห์ในภาคสนามเนื่องจากเครื่องมือมีขนาดใหญ่

2.6.2 เทคนิค liquid chromatography

Hongfei Yue และคณะ [9] ได้พัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 โดยใช้การแยกด้วยเทคนิค reverse phase high performance liquid chromatography (reverse-phase HPLC) คือใช้ stationary phase เป็น C-18 column และใช้ mobile phase เป็นสารละลาย 50 mM ammonium acetate และตรวจวัดด้วย colorimetric detector เทคนิคนี้ถูกนำไปประยุกต์ใช้วิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 ในตัวอย่างพวก cospovidone และตัวอย่างยา โดยเทคนิคนี้ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.6-4.5 ppm ($\mu g/g$) และ 6-90 ppm ($\mu g/g$) สำหรับตัวอย่างยาและตัวอย่าง cospovidone ตามลำดับ

Spencer M.Steinberg [10] ได้พัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 โดยให้ H_2O_2 ทำปฏิกิริยากับ iodide ในสารละลาย ammonium molybdate และ vanillic acid ซึ่งทำให้เกิดเป็น iodovanillic acid ซึ่งหาปริมาณโดยแยกด้วยเทคนิค reverse-phase HPLC และตรวจวัดด้วยวิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสง UV ที่ 280 nm เทคนิคนี้มีข้อดีที่ iodovanillic acid ที่เกิดขึ้นนั้นมีความเสถียร ทำให้วิธีวิเคราะห์มี precision ที่ดี เทคนิคนี้ถูกประยุกต์ใช้สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 ในสารละลาย suspension ของตัวอย่างพวกแร่และดิน โดยให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด H_2O_2 ในช่วงความเข้มข้น 0.2-100 μM และมีค่า LOD ประมาณ 0.1 μM

อย่างไรก็ตาม HPLC มีข้อจำกัดคล้ายกับเทคนิค GC คือ เทคนิคนี้ใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน ทำให้ไม่สะดวกในการวิเคราะห์สารตัวอย่างมากๆ เครื่องมือที่ใช้มีราคาแพง และยากต่อการวิเคราะห์ในภาคสนามเนื่องจากเครื่องมือมีขนาดใหญ่

2.6.3 เทคนิค spectrophotometry

E.I.Morosanova, M.V. Belyakov และ Yu.A.Zolotov [11] ได้พัฒนาวิธีสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 โดยอาศัยหลักการที่ว่า titanium (VI) ที่เชื่อมกับ silica titania สามารถเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับ H_2O_2 ได้ใน pH ช่วง 3-12 เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีสีและดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 390 nm เทคนิคนี้นำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 ในน้ำยาฆ่าเชื้อ ซึ่งให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด H_2O_2 ในช่วงความเข้มข้น 0.6-15 mg/L และ 3-190 g/L

P.Nagaraja และคณะ [12] ได้พัฒนาวิธี spectrophotometric method สำหรับวิเคราะห์หา H_2O_2 โดยอาศัยปฏิกิริยา oxidative coupling ระหว่าง ampyrone และ dibenzazepin hydrochloride โดยเชื่อมด้วย H_2O_2 ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 4 และมี ferrous iron เป็น catalyst ทำให้เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีสีน้ำเงินดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่นแสง 620 nm โดยค่าการดูดกลืนแสงจะแปรผันตรงกับปริมาณ H_2O_2 ในปฏิกิริยา เทคนิคนี้สามารถวิเคราะห์ H_2O_2 ได้ ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.03-0.42 $\mu\text{g/mL}$ และนำเทคนิคนี้ไปประยุกต์ใช้สำหรับวิเคราะห์หา H_2O_2 ในตัวอย่างพืชสีเขียวได้อย่างน่าพอใจ

การวิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 ด้วยเทคนิค spectrophotometry มีข้อดีคือ ง่าย ใช้เครื่องมือราคาไม่แพง แต่ก็มีข้อเสียที่มี selectivity ต่ำ ไม่สามารถวิเคราะห์ H_2O_2 ได้โดยตรง จำเป็นต้องอาศัยการทำปฏิกิริยาต่างๆเพื่อเพิ่ม selectivity และ sensitivity

2.6.4 เทคนิค Luminescence

Xiaoyan Yang, Yingshu Guo และ Zhenhua Mei [13] ได้พัฒนาวิธีสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 โดยใช้ *p*-phenol derivative, 4-(1,2,4-triazol-1-yl) phenol (TRP) เป็นตัวช่วยเพิ่มสัญญาณของระบบ Luminol- H_2O_2 -HRP chemiluminescence (CL) เทคนิคนี้นำไปประยุกต์ใช้สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 ในน้ำฝนโดย immobilize HRP ไว้บน magnetic bead เพื่อเป็น solid support ซึ่งวิธีนี้ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด H_2O_2 ในช่วงความเข้มข้น 2×10^{-6} - 1×10^{-3} M และมีค่า LOD เท่ากับ 2×10^{-6} M

Baiging Yuan, Hongwei Du และ Tianyan You [14] ได้พัฒนาวิธีสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 โดยการผลิต tris (2,2'-bipyridine) ruthenium (II) ($Ru(bpy)_3^{2+}$) Cathodic electrochemiluminescence (ECL) ขึ้นที่ขั้ว Pt ในสารละลาย acetonitrile (ACN) เมื่อให้ศักย์ไฟฟ้าเข้าไปที่ -0.78 V และมีการเติม tripropylamine

(TPrA) ลงไปในสารละลายเพื่อช่วยเพิ่มสัญญาณ cathodic ECL แต่ H_2O_2 สามารถยับยั้งสัญญาณ cathodic ECL ได้ ทำให้สามารถวิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 ได้ด้วยวิธีอ้อม (indirect determination) ซึ่งให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด H_2O_2 ในช่วงความเข้มข้น 27-540 μM โดยให้ค่า RSD เท่ากับ 0.87 เปอร์เซ็นต์

Ting Wen และคณะ [15] ได้พัฒนา fluorescence probe สำหรับวิเคราะห์หา H_2O_2 และ glucose ในตัวอย่างเลือด โดยการวิเคราะห์ polyethyleneimine-capped silver nanochuster (PEI-Ag nanochuster) ที่มีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 2 nm ซึ่งจะคายแสงสีน้ำเงินที่ 455 nm ซึ่ง fluorescence ของ PEI-Ag nanochuster สามารถถูก quench ได้โดย H_2O_2 จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของ glucose โดย glucose oxidase ซึ่งจะทำให้เกิดเป็น H_2O_2 ทำให้สามารถใช้การ fluorescence quenching ของ PEI-Ag nanochuster โดย H_2O_2 ในการตรวจวัด glucose ได้ เทคนิคนี้มี Sensitivity ที่ดี ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงสำหรับการวิเคราะห์ H_2O_2 ในช่วงความเข้มข้น 500 nM–100 μM ด้วย LOD เท่ากับ 400 nM และให้ช่วงความเป็นเส้นตรงสำหรับการตรวจวัด glucose ในช่วงความเข้มข้น 1×10^{-6} – 1×10^{-5} M และ 1×10^{-5} – 1×10^{-3} M ด้วย LOD เท่ากับ 8×10^{-7} M

Xiangyi huang ,Tao Lan ,Bocheng Zhang และ Jicun Ren [16] ได้พัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 โดยใช้หลักการส่งผ่านหรือย้ายพลังงาน fluorescence resonance (FRET) gold nanoparticle (AuNPs) เป็นตัวรับพลังงาน โดยเตรียม AuNPs โดยการสังเคราะห์ด้วย horseradish peroxidase (HRP) และ Bis (Trimethylsilyl) Acetamide (BSA) ส่วน tyramide จะ conjugate อยู่กับ tetramethyl rhodamine (TMR) เมื่อไม่มี H_2O_2 ในระบบก็จะไปเกิดการ conjugate ระหว่าง tyramide labeled (TMR) และ HRP- conjugate AuNPs และ FRET ก็จะไม่เกิดขึ้น ซึ่ง TMR จะให้ fluorescence spectrum overlap กับ visible absorption band ของ AuNPs อยู่บางส่วน (EX_{MAX} 575 nm) แต่เมื่อมี H_2O_2 จะทำให้เกิด FRET ระหว่าง tyramide labeled TMR (เป็น energy donors) และ HRP (หรือ BSA) – conjugate AuNPs (เป็น energy acceptors) เนื่องมาจากการเกิด complex TMR- labeled HRP- AuNPs หรือ TMR- labeled BSA –AuNPs ทำให้ fluorescence emission ของ TMR ถูก quench โดย AuNPs สัญญาณ fluorescent จึงลดลงตามปริมาณ H_2O_2 เทคนิคนี้ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการวิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 ในช่วงความเข้มข้น 25-400 nM และให้ค่า LOD เท่ากับ 10 nM

Estefania Ortega, Susana de Marcos และ Javier Galban [17] พัฒนาวิธีด้าน biosensor สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 โดยอาศัยปฏิกิริยาการผันกลับของ H_2O_2 ไปเป็น O_2 และ H_2O ซึ่ง bioreceptor ที่ใช้คือ Catalase-like-Ruthenium O_2 –sensitive fluorophore (Cat-Ru) โดยจะตรวจวัด O_2 ที่เกิดจาก H_2O_2 ซึ่ง O_2 จะทำให้เกิด fluorescent และถูกตรวจวัดที่ 600 nm ซึ่งความเข้มข้นของ H_2O_2 จะแปรผันตรงกับความเข้มของ fluorescent เทคนิคนี้ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการวิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 ในช่วงความเข้มข้น 1×10^{-4} - 1×10^{-3} M ซึ่งเทคนิคนี้ถูกรบกวนจาก interference ต่างๆ น้อยกว่าวิธีอื่นๆที่ใช้วิเคราะห์หา H_2O_2 และ

bioreceptor สามารถใช้ได้มากกว่า 1 เดือน นอกจากนี้เทคนิคนี้ยังสามารถประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดสารจำพวก clinical substrate เช่น glucose, cholesterol, lactic acid และอื่นๆ โดยการปรับสารที่ใช้ link กับ catalase

Zhiliang Jiang [18] ได้พัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 โดยใช้ Rhodamine B ซึ่งให้ fluorescence ที่ 584 nm เมื่อกระตุ้นด้วยความยาวคลื่นที่ 584 nm ซึ่ง fluorescence quenching จะเกิดขึ้นเมื่อเกิดปฏิกิริยา Oxidation ของ Rhodamine B กับ H_2O_2 โดยมี Fe_3O_4 nanoparticles เป็น catalyst ซึ่งความเข้มของ fluorescence ที่ 584 nm จะลดลงเมื่อมีปริมาณ H_2O_2 เพิ่มมากขึ้น วิธีนี้ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด H_2O_2 ในช่วงความเข้มข้น 10 – 200 nmol/L และถูกนำไปประยุกต์ใช้วิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 ใน synthetic sample 3 ตัวอย่าง

Yuan Gao และคณะ [19] ได้พัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 และ glucose โดยใช้ Fe_3O_4 magnetic nanoparticles (MNPs) เป็น peroxidase mimetic catalyst ที่ทำให้ H_2O_2 เปลี่ยนไปอยู่ในรูปของ radical ซึ่งสามารถ quench fluorescence ของ CdTe QDs ได้ และปฏิกิริยาออกซิเดชันของ glucose โดย glucose oxidase ถูกใช้ร่วมกับหลักการของ fluorescence quenching ของ CdTe QDs ที่เกิดโดย H_2O_2 ซึ่งมี Fe_3O_4 MNPs เป็น catalyst ทำให้สามารถใช้วิธีนี้ตรวจวัด glucose ได้ด้วย เทคนิคนี้ถูกประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณ glucose ในตัวอย่างเซรัมของมนุษย์ โดยให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด H_2O_2 ในช่วงความเข้มข้น 1.8×10^{-7} - 9×10^{-4} mol/L ให้ค่า LOD เท่ากับ 1.8×10^{-8} mol/L และให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด glucose ในช่วง 1.6×10^{-6} - 1.6×10^{-4} mol/L ซึ่งมีค่า LOD เท่ากับ 1.0×10^{-6} mol/L

Wei Luo และคณะ [20] ได้พัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 โดยใช้ BiFeO₃ magnetic nanoparticles (BFO MNPs) กระตุ้นให้ H_2O_2 สลายตัวไปอยู่ในรูป OH radical ซึ่ง radical ที่เกิดขึ้นจะไป Oxidize benzoic acid ซึ่งเป็น weakly fluorescent ให้อยู่ในรูป hydroxylate ซึ่งเป็น strongly fluorescent คายแสงออกมาสูงสุด ที่ 405 nm ดังนั้นหากมีปริมาณ H_2O_2 ในตัวอย่างมาก ปริมาณแสงที่คายออกมาที่ 405 nm ก็จะมีค่าความเข้มแสงมากด้วย เทคนิคนี้ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด H_2O_2 ในช่วงความเข้มข้น 2×10^{-8} - 2×10^{-5} mol/L ซึ่งมีค่า LOD เท่ากับ 4.5×10^{-9} mol/L นอกจากนี้เทคนิคนี้ยังถูกพัฒนาไปใช้ตรวจวัด glucose โดยใช้ glucose oxidase และ BFO MNPs เป็น catalyst โดยให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด glucose ในช่วงความเข้มข้น 1×10^{-6} - 1×10^{-4} mol/L ซึ่งมีค่า LOD เท่ากับ 5×10^{-7} mol/L วิธีนี้ถูกนำไปประยุกต์ใช้ตรวจวัด H_2O_2 ในน้ำฝนและตรวจวัด glucose ในตัวอย่างเซรัมของมนุษย์

Ryosuke Nakahara และคณะ [21] ได้พัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 โดยอาศัยปฏิกิริยาออกซิเดชันของ fluorescein เมื่อ fluorescein ทำปฏิกิริยากับ H_2O_2 จะเกิดการคายแสงออกมาที่ความยาวคลื่น 525 nm ทำให้สามารถหา H_2O_2 ได้จากปริมาณแสงที่ fluorescein คายออกมา เทคนิคนี้ได้ถูกนำไปประยุกต์ใช้

วิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 ในตัวอย่างเซรัมลูกวัว น้ำลายมนุษย์ น้ำฝน และก๊วยเตี๋ยว โดยให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด H_2O_2 ในช่วงความเข้มข้น 1.5-310 ng/mL และมีค่า LOD เท่ากับ 1.9 ng/mL

M.E. Abbas และคณะ [22] ได้พัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 โดยอาศัยปฏิกิริยา Fenton หลักการคือ non- fluorescent coumarin จะถูกออกซิไดซ์ โดย hydroxyl radical (OH) ซึ่งเกิดขึ้นจากปฏิกิริยา Fenton ของ H_2O_2 ให้กลายเป็น 7-hydroxycoumarin ซึ่งมีความสามารถในการเรืองแสงสูง ที่ 456 nm ดังนั้นหากมีปริมาณ H_2O_2 ในตัวอย่างสูง ปริมาณแสงที่ถูกคายออกมาก็สูงเช่นกัน เทคนิคนี้ถูกประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 ในตัวอย่างนม โดยให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด H_2O_2 ในช่วงความเข้มข้น 2×10^{-8} - 2×10^{-5} mol/L และมีค่า LOD เท่ากับ 5×10^{-9} mol/L

การวิเคราะห์ H_2O_2 ด้วยเทคนิค Chemiluminescence นั้นมีข้อดีคือ มี sensitivity สูง ทำให้ได้ค่า LOD ต่ำ การใช้งานเครื่องมือง่าย และราคาไม่แพง แต่ reagent ที่ใช้ทำให้เกิด luminescence ส่วนใหญ่เป็นสารจำพวกเอนไซม์ ซึ่งมีราคาแพงและไม่เสถียร

2.6.5 เทคนิค Electrochemical technique

Halimeh Rajabzade และคณะ [23] ได้พัฒนาเทคนิค electrochemical เพื่อใช้วิเคราะห์ปริมาณ H_2O_2 โดยการสังเคราะห์ AuNPs ขนาดประมาณ 20 – 25 nm ให้เกาะอยู่บน Carbon nanotubes (CNT) โดยใช้เทคนิค cyclic voltammetry ซึ่งขณะสังเคราะห์จะต้องควบคุมศักย์ไฟฟ้าที่ให้และระยะเวลาในการเคลือบเพื่อให้ AuNPs เกาะเป็น monolayer อยู่บน CNT แล้วเคลือบด้วย ionic liquid อีกครั้งหนึ่ง การตรวจวัดอาศัยการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ AuNPs และ H_2O_2 เมื่อให้ศักย์ไฟฟ้าเข้าไป จะเกิดกระแสไฟฟ้าขึ้นซึ่งถูกตรวจวัดด้วย Amperometer ซึ่งสัญญาณที่ได้จะแปรผันตรงกับปริมาณ H_2O_2 modified electrode ที่สังเคราะห์ขึ้นให้สัญญาณสูงกว่า unmodified electrode เทคนิคนี้ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด H_2O_2 ในช่วงความเข้มข้น 0.02 μ M – 0.3 mM และมีค่า LOD ต่ำกว่า 0.4 μ M.

Afsaneh Safavi, Norouz Maleki และ Elaheh Farjami [24] ได้พัฒนาเทคนิค electrochemical เพื่อใช้วิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 โดยการเคลือบ AgNPs ใบบนผิวของ carbon ionic liquid electrode (CILE) โดยใช้เทคนิค Potentiostatic double pulse เพื่อควบคุมขนาดและสัญญาณของ AgNPs modified electrode ที่สังเคราะห์ขึ้นตอบสนองต่อปฏิกิริยารีดักชันของ H_2O_2 เป็นอย่างดี เทคนิค voltammetry ที่พัฒนาขึ้นเพื่อตรวจวัด H_2O_2 ใช้ระบบ 3 electrode ได้แก่ Ag/AgCl/KCl เป็น reference electrode , platinum disk เป็น counter electrode และ AgNPs- CILE เป็น working electrode เทคนิคนี้ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด H_2O_2 ในช่วงความเข้มข้น 2 – 200 μ M และมีค่า LOD เท่ากับ 0.7 μ M.

Bin Xu, Min-Ling Ye, Yu-Xiang Yu และ Wei-De Zhang [25] ได้พัฒนาอิเล็กโทรดโดยการเชื่อม Cu electrode ด้วย MnO₂-modified vertically aligned multiwalled -carbon nanotubes (MnO₂/VACNTs) เพื่อใช้วิเคราะห์หาปริมาณ H₂O₂ ในการวิเคราะห์เริ่มต้นด้วย H₂O₂ จะ adsorb บน active site ของ MnO₂/VACNTs แล้ว MnO₂ จะถูกรีดิวซ์โดย H₂O₂ ตัวที่ adsorb และถูกออกซิไดซ์โดยไฟฟ้าไปเป็น MnO₂ หรือ Mn₂O₃ บนผิว electrode แล้ว MnO₂ และ Mn₂O₃ จะถูกออกซิไดซ์โดยไฟฟ้าไปอยู่ในสถานะที่ต่ำกว่า ซึ่งการเติม H₂O₂ ทำให้ oxidation current เพิ่มขึ้นจากเดิมมาก ในขณะที่ reduction current เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย เทคนิคนี้จึงเลือกตรวจวัด H₂O₂ โดยการตรวจวัด oxidation current เทคนิคนี้ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด H₂O₂ ในช่วงความเข้มข้น $1.2 \times 10^{-6} - 1.8 \times 10^{-3}$ M และมีค่า LOD เท่ากับ 8×10^{-7} M.

Bing Zhang และคณะ [26] ได้พัฒนาเทคนิค electrochemical เพื่อใช้วิเคราะห์หาปริมาณ H₂O₂ โดยการ modified glassy carbon electrode ด้วยการสังเคราะห์ gold nanoparticles ให้กระจายตัวอยู่บน graphene oxide (AuNP-GO) ด้วยปฏิกิริยารีดอกซ์ระหว่าง AuCl₄⁻ และ GO และเคลือบผิว AuNP-GO ที่อยู่บน glassy carbon electrode ด้วย thionine-catalase conjugates ซึ่ง reduction current ที่เกิดขึ้นจากการเติม H₂O₂ จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณ H₂O₂ ที่มีในปฏิกิริยาหรือในตัวอย่าง เทคนิคนี้ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด H₂O₂ ในช่วงความเข้มข้น 0.1 μM - 2.3 μM และมีค่า LOD เท่ากับ 0.01 μM.

Chia-Yu Lin และคณะ [27] ได้พัฒนาเทคนิค electrochemical เพื่อใช้วิเคราะห์หาปริมาณ H₂O₂ โดยการ modified fluorine-doped tin oxide (FTO) electrode เริ่มต้นด้วยการเคลือบผิว electrode ด้วย ZnO เป็นฟิล์มบางๆเพื่อเป็น seeding layer แล้วจึงเชื่อม seeding layer ด้วย zinc oxide nanorods (ZnONRs) แล้วนำไปอบ หลังจากนั้น deposit ZnONRs ด้วย AgNPs โดยใช้ปฏิกิริยา photoreduction ซึ่ง reduction current ที่เกิดขึ้นจากการเติม H₂O₂ จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณ H₂O₂ เมื่อใช้เทคนิค cyclic voltammetry เทคนิคนี้ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด H₂O₂ ในช่วงความเข้มข้นถึง 1 mM โดยมีค่า LOD เท่ากับ 0.9 μM.

Feyza S. Yardimci, Mehmet Senel และ Abdülhadi Baykal [28] ได้พัฒนาเทคนิค amperometric เพื่อใช้วิเคราะห์หาปริมาณ H₂O₂ โดยการ modified glassy carbon electrode (GCE) ด้วย horseradish peroxidase (HRP) immobilized into Chitosan-CoFe₂O₄ nanocomposite ในการวิเคราะห์ reduction current ที่เกิดขึ้นจากการเติม H₂O₂ จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณ H₂O₂ ซึ่งให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด H₂O₂ ในช่วงความเข้มข้น 0.03 - 8 mM และมีค่า LOD เท่ากับ 0.02 μM.

H. Razmi, R. Mohammad-Rezaei และ H. Heidari [29] ได้พัฒนาเทคนิค electrochemical เพื่อใช้วิเคราะห์หาปริมาณ H₂O₂ โดยการเคลือบ Prussian blue nanoparticles (PBNPs) บนผิวของ carbon ceramic electrode (CCE) ด้วยการจุ่มและแช่ขั้วในสารละลาย 0.2 M K₃[Fe(CN)₆], Fe(NO₃)₃·9H₂O and 0.5 M KNO₃ ซึ่งในการวิเคราะห์จะติดตาม reduction current ซึ่ง reduction current ที่วัดได้จะแปรผันตรงกับปริมาณ

H_2O_2 ที่มีในตัวอย่าง เทคนิคนี้ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด H_2O_2 ในช่วงความเข้มข้น $1 \mu M - 0.26 \text{ mM}$ และมีค่า LOD เท่ากับ $0.07 \mu M$ เทคนิคนี้เหมาะสำหรับการนำไปประยุกต์กับงาน routine analysis

Haesang Jeong และคณะ [30] ได้พัฒนาเทคนิค electrochemical เพื่อใช้วิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 โดยการ Modified glassy carbon electrode (GCE) ด้วยการเคลือบ Polytetrakis(2-aminophenyl)porphyrin Nanowire (PTAPPNW) บนผิวของ GCE โดยเริ่มต้นเตรียม PTAPPNW โดยการเท TAPP (1 mg) solution of $CH_3CN:CH_2Cl$ (1:1, 1 mL) ลงในรูพรุนของ PT-coated multiporous anodic aluminum oxide (AAO) membrane แล้วให้ศักย์ไฟฟ้าเข้าไป เรียกว่าการ coat ด้วยวิธี electrochemical polymerization ส่วน AAO membrane กำจัดออกได้โดยการแช่ในสารละลาย 1.0 M NaOH และล้างให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น หลังจากนั้นจึงนำ GCE มาเคลือบด้วยสารละลาย $0.5\% \text{ Nafion}$ ที่มี PTAPPNW (1 mg/mL) และ SWNT (1 mg/mL) อยู่ ซึ่งหลังจากการเคลือบตัวทำละลายจะ evaporate ออกไป จะได้ PTAPPNW modified GCE ที่ใช้เป็น working electrode สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 ในเทคนิค electrochemical ซึ่งในการตรวจวัดจะติดตาม electrocatalytic reduction current ซึ่งสัญญาณที่วัดได้จะแปรผันตรงกับปริมาณ H_2O_2 ที่มีในตัวอย่าง เทคนิคนี้ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด H_2O_2 ในช่วงความเข้มข้น $100 \mu M - 1.0 \text{ mM}$ และมีค่า LOD เท่ากับ $1 \mu M$.

Huaan Zhong และคณะ [31] ได้พัฒนาเทคนิค Amperometric biosensor เพื่อใช้วิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 โดยการ Modified gold electrode ด้วย horseradish peroxidase ที่เกาะบน gold nanowires และ TiO_2 nanoparticles ซึ่งเริ่มต้นด้วยการเคลือบ gold electrode ด้วยสารละลาย $5 \mu L$ of nano- TiO_2 (5%) แล้วทำให้แห้งด้วยอากาศ หลังจากนั้นแช่ electrode ที่เคลือบ TiO_2 แล้วในสารละลาย gold nanowires (Au NWs) เป็นเวลา 8 ชั่วโมง ซึ่ง Au NWs เตรียมจากการเติม 20 mL ของสารละลายผสมของ 0.05 M Cetyltrimethylammonium bromide with $5 \mu mol$ chloroauric acid (1.0 mL of 5 mM solution) and $5.5 \mu mol$ ascorbic acid (1.0 mL of 5.5 mM solution) ลงใน 75 mL ของสารละลาย 1 M NaOH ขณะที่กำลังปั่นกวนอยู่ กระบวนการเติมโตของ Au NWs ใช้เวลาประมาณ 5 นาที โดยการสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย จากสีเหลืองไปเป็นสีแดง ถือว่าการสังเคราะห์ Au NWs เสร็จเรียบร้อย ขั้นตอนสุดท้ายแช่ Au NWs/nano- TiO_2 /Au modified electrode ในสารละลาย 2.5 mg/mL HRP (PBS, pH 7) ที่อุณหภูมิ $4 \text{ }^\circ C$ เป็นเวลา 12 ชั่วโมง เพื่อให้โมเลกุลของเอนไซม์จับอยู่บนผิวของ electrode electrode ที่พัฒนาขึ้นถูกนำไปใช้วิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 ในระบบ cyclic voltammetry โดยใช้ saturated calomel electrode (SCE) เป็น reference electrode, Pt wire เป็น counter electrode มี bare gold electrode และ Modified gold electrode เป็น working electrode โดยการติดตาม reduction current ซึ่งสัญญาณที่วัดได้จะแปรผันตรงกับปริมาณ H_2O_2 ซึ่งเมื่อเปรียบระหว่าง bare gold electrode และ Modified gold electrode พบว่า Modified gold electrode มี

sensitivity และ stability ดีกว่า นอกจากนี้ยังให้ช่วงความเป็นเส้นตรงกว้างกว่า และมีค่า LOD ต่ำกว่าอีกด้วย ซึ่งให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด H_2O_2 ในช่วงความเข้มข้น $2.3 \times 10^{-6} - 2.4 \times 10^{-3}$ M และมีค่า LOD เท่ากับ 7×10^{-7} M.

Jagriti Narang, Nidhi Chauhan และ C. S. Pundir [32] ได้พัฒนา non-enzymatic sensor ใน Electrochemical technique เพื่อใช้วิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 โดยการ modified polyaniline (PANI), multiwalled carbon nanotubes (MWCNTs) and gold nanoparticles (AuNPs) ลงบนผิว Au electrode เริ่มต้นด้วยการเติม Aniline (50 ml) ลงใน 10.0 ml ของสารละลาย 1 N HCl แล้วเคลือบไปบน Au electrode ด้วย cyclic voltammetric technique หลังจากนั้นเตรียม Carboxylated multiwalled carbon nanotubes (c-MWCNTs) โดยการเติม 1 mg c-MWCNT ลงในสารละลายผสมของ H_2SO_4 และ HNO_3 ในอัตราส่วน 3 : 1 (v/v) ปริมาณ 1 mL แล้ว ultrasonicated เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จะสารละลายสีดำที่มี c-MWCNTs กระจายตัวอยู่ กำจัดกรดทิ้งไปโดยการล้างด้วย Double distilled water (DW) หลังจากนั้นนำ PANI modified electrode แช่ในสารละลาย c-MWCNTs เป็นเวลา 24 ชั่วโมง c-MWCNTs จะยึดกับ PANI layer ด้วย -CO-NH-bond ระหว่าง -COOH group ของ c-MWCNTs และ free -NH₂ group ของ PANI หลังจากนั้นล้างด้วย DW และทำให้แห้งที่ 4 °C หลังจากนั้นแช่ c-MWCNT/PANI/Au electrode ในสารละลาย Au NPs ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง สุดท้ายจะได้ AuNPs/c-MWCNT/PANI modified Au electrode ที่มี sensitivity สูงในการตรวจวัด H_2O_2 ซึ่งเทคนิคนี้ถูกนำไปประยุกต์ใช้วิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 ในตัวอย่างปัสสาวะ นมผง และนม sterilized โดยให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด H_2O_2 ในช่วงความเข้มข้น 3 – 600 μM และมีค่า LOD เท่ากับ 0.3 μM .

Jianfeng Ping และคณะ [33] ได้พัฒนาเทคนิค non-enzymatic electrochemical sensing เพื่อใช้วิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 โดยการ modified carbon electrode ด้วย Copper oxide nanoparticles (CuO NPs) และ ionic liquid โดยเริ่มต้นด้วยการผสม Ionic liquid n-octylpyridium hexafluorophosphate (OPPF₆), graphite powder และ CuO NPs เข้าด้วยกันด้วยอัตราส่วนที่เหมาะสม จะได้ของผสมที่มีลักษณะเป็น paste แล้ว pack ของผสมใส่ใน electrode cavity (1.8 mm diameter) แล้วอบที่อุณหภูมิสูงกว่า melting point ของ OPPF₆ (mp 65 °C) CuO NPs-CILE ที่ได้จะไม่เหมือนกับ film-modified electrode ซึ่งมีวิธีการทำง่ายกว่า และมี reproducibility สูงกว่าด้วย เทคนิคนี้ติดตาม reduction current ซึ่งแปรผันตรงกับปริมาณ H_2O_2 เมื่อเปรียบเทียบกับ non-modified CILE และ bulk modified carbon paste electrodes (CPEs) แล้วให้ sensitivity ที่ดีกว่า เทคนิคนี้ถูกนำไปประยุกต์ใช้สำหรับตรวจวัด H_2O_2 ในตัวอย่างนม และเหมาะกับงาน routine analysis ซึ่งให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด H_2O_2 ในช่วงความเข้มข้น 1 $\mu\text{M} - 2.5$ mM และมีค่า LOD เท่ากับ 0.5 μM .

Jianfeng Ping, Jian Wu, Kai Fan และ Yibin Ying [34] ได้พัฒนาเทคนิค amperometric sensor เพื่อใช้วิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 โดยการ modified glassy carbon electrode (GCE) ด้วย Prussian blue (PB) และ poly(o-phenylenediamine) (POPD) โดยเริ่มต้นด้วยการละลายฟิล์ม PB ในสารละลาย 2.5 mM $FeCl_3$, 2.5 mM $K_3Fe(CN)_6$, 0.1 M KCl และ 0.1 M HCl แล้วจุ่ม GCE ลงไปในสารละลายนั้นเพื่อเคลือบ PB ด้วยเทคนิค cyclic voltammetry โดยให้ศักย์ในช่วง 0.35 and -0.05 V และ scan rate 0.05 V/s เป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำ DI และอบที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นเคลือบ POPD layer บน PB film อีกชั้นหนึ่ง โดยจุ่ม POPD-GCE ในสารละลาย phosphate buffer (PBS, pH 5.5, 0.01 M) ที่มี 5.0 mM OPD monomer อยู่ เคลือบด้วยวิธี electropolymerisation โดยให้ศักย์ในช่วง -0.05 - 0.8 V ทั้งหมด 15 cycles โดยใช้ scan rate 0.01 V/s GCE/PB/POPD ที่ได้ถูกนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 ในเครื่องดื่มน้ำต่างๆ โดยการติดตาม reduction current ซึ่งแปรผันตรงกับปริมาณ H_2O_2 ซึ่งให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด H_2O_2 ในช่วงความเข้มข้น 0.1 μ M – 0.12 mM และมีค่า LOD เท่ากับ 0.05 μ M.

ข้อดีของเทคนิค Electrochemical คือมี sensitivity และ selectivity สูง เมื่อมีการ modified electrode สะดวกต่อการนำไปวิเคราะห์นอกห้องปฏิบัติการ แต่เทคนิคนี้มีความเสถียรของสัญญาณต่ำและมีความยุ่งยากและซับซ้อนในการเตรียม electrode

2.6.6 เทคนิค Capillary electrophoresis

Zhenzhen chen และคณะ [35] ได้พัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์หาปริมาณ Glutathione (GSH) และ H_2O_2 ในไมโทคอนเดรียของ Apoptotic Cell โดยใช้การแยกด้วยเทคนิค Microchip Electro โดยใช้ Organoselenium probe Rh-Se-2 และ bis (p-methylbenzenesulfonate) dichlorofluorescein (FS) เป็น probe-fluorescent สำหรับ GSH และ H_2O_2 ตามลำดับ ซึ่ง RH-SE-2 เป็น nonfluorescent แต่เมื่อทำปฏิกิริยากับ GSH แล้วจะเกิดเป็น rhodamine 110 ซึ่งเป็นสารที่มี Quantum yield สูง ส่วน FS ก็เป็น nonfluorescent เช่นกัน เมื่อทำ ปฏิกิริยากับ H_2O_2 แล้วเกิดเป็น dichlorofluorescein ทำให้มี fluorescence เพิ่มมากขึ้น ทำให้สารที่ใช้เป็น Probe ทั้งสองมี Sensitivity ที่ดีสำหรับตรวจวัดโมเลกุลเป้าหมายของตัวเอง เทคนิคนี้ให้การวิเคราะห์ที่เร็ว ง่าย และว่องไว สามารถวิเคราะห์เสร็จภายใน 37 S เมื่อใช้ 50 mM mannitol และ 40 mM HEPES (pH 7.4) เป็น running buffer ใช้ศักย์ไฟฟ้า 360V/cm ในการแยกได้ช่วงความเป็นเส้นตรง 3.3×10^{-9} - 1.0×10^{-7} M และ 2.7×10^{-9} - 4.0×10^{-7} M และ LOD เท่ากับ 1.3 nM และ 1.0 nM สำหรับวิเคราะห์ GSH และ H_2O_2 ตามลำดับ

เทคนิค CE สามารถแยก H_2O_2 ในตัวอย่างได้อย่างมีประสิทธิภาพ ให้ค่า LOD ต่ำ เนื่องจากมีการแยกสารก่อนแล้วจึงตรวจวัด ทำให้ไม่มีการรบกวนจากเมทริกซ์ในตัวอย่าง และสามารถพัฒนาให้เป็นเครื่องวิเคราะห์นอกห้องปฏิบัติการได้ แต่ก็เป็นเทคนิคที่มีราคาแพง จำเป็น ต้องใช้บุคลากรที่มีความชำนาญและ

เชิงพาณิชย์ และเทคนิค CE ก็ไม่สามารถแยก H_2O_2 ได้โดยตรงอีกด้วย จำเป็นต้องทำปฏิกิริยาต่างๆแล้วจึงแยกและตรวจวัดผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยานั้น

2.6.7 เทคนิค flow injection analysis

Makeoto Kurihara, Miyuki Muramatsu, Mari Yamada, และ Naoya Kitamura [36] ได้พัฒนาวิธี flow injection สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 โดยอาศัยการกระตุ้นปฏิกิริยา Oxidation ด้วย cobalt (II)-catalyzed ร่วมกับ 3-methyl-2-benzothiazolinone hydrazone (MBTH) และ N-ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3,5-dimethoxyaniline (DAOS) เป็น modified Trinder's reagent ซึ่งทำให้เกิดเป็นสีชมพูที่ดูดกลืนแสงสูง ($\lambda_{\text{max}} = 530 \text{ nm}$) เมื่อมี H_2O_2 ที่ pH 8.4 ทำให้สามารถติดตามปริมาณ H_2O_2 โดยการติดตามปริมาณความเข้มแสงที่เกิดขึ้น ที่ 530 nm เทคนิคนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้วิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 ในน้ำฝน โดยมีช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด H_2O_2 ในช่วงความเข้มข้น $5 \times 10^{-8} - 2.2 \times 10^{-6} \text{ M}$ สามารถวิเคราะห์ได้ 20 ตัวอย่างต่อชั่วโมง นอกจากนี้ยังมีความไว และราคาไม่แพง

Hui Chen และคณะ [37] ได้พัฒนาวิธีการ flow-injection chemiluminescence (CL) สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 โดยอาศัยปฏิกิริยาระหว่าง H_2O_2 และ hydrogen carbonate โดยมี Carbon nanospheres (CNSs) เป็น catalyst ซึ่ง CNSs เตรียมจากสารละลาย glucose เพื่อเพิ่มสัญญาณ CL ให้สูงขึ้น และความเข้มของ CL ที่ตรวจวัดได้จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของ H_2O_2 ที่มีในตัวอย่าง เทคนิคนี้โดยให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด H_2O_2 ในช่วงความเข้มข้น $5 \times 10^{-8} - 3 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ และมีค่า LOD เท่ากับ $1 \times 10^{-9} \text{ mol/L}$ เทคนิคนี้ถูกประยุกต์ใช้สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 ในตัวอย่างน้ำก๊อกและน้ำหิมะ ด้วยเปอร์เซ็นต์ recovery 80-110 เปอร์เซ็นต์

Zhihua Wang และคณะ [38] ได้พัฒนาวิธีสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 โดยใช้ Mg-Al-carbonate layered double hydroxide (Mg-Al- CO_3 LDHs) เป็น green catalyst ของ luminol chemiluminescence (CL) สัญญาณ CL ที่ได้จะแปรผันตรงกับปริมาณ H_2O_2 ที่มีในตัวอย่าง โดยเทคนิคนี้ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการวิเคราะห์ H_2O_2 ช่วงความเข้มข้น 0.05-10 μM และมีค่า LOD เท่ากับ 0.02 μM เทคนิคนี้ถูกนำไปประยุกต์ใช้สำหรับวิเคราะห์หาตัวอย่างน้ำฝนซึ่งให้ accuracy และ precision ที่ดี โดยให้ RSD เท่ากับ 2.9 เปอร์เซ็นต์ ในการวิเคราะห์ซ้ำ 1.0 μM H_2O_2

การใช้เทคนิค flow injection analysis ในการวิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 ส่วนมากจะพัฒนาโดยการตรวจวัดสีของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยา โดย reagent ที่นำมาใช้ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ที่มีสีเป็นสารที่ select ต่อ H_2O_2 ทำให้เทคนิคนี้มี sensitivity และ selectivity ที่ดี และเป็นระบบอัตโนมัติ เหมาะแก่การนำไปใช้วิเคราะห์ตัวอย่างหลายๆ แต่ reagent มีราคาแพง และมีการเตรียม reagent ที่ค่อนข้างยุ่งยาก

2.6.8 เทคนิคอื่นๆ

You Sang และคณะ [1] ได้พัฒนาวิธีสำหรับวิเคราะห์หา H_2O_2 โดยอาศัยการ Aggregation ของ gold nanoparticles (AuNPs) AuNPs สามารถเสถียรอยู่ได้ใน single-stranded DNA (ssDNA) ซึ่ง ssDNA ช่วยป้องกันการ Aggregation ของ AuNPs ทำให้สีของสารละลาย AuNPs มีสีแดง ดูดกลืนแสงที่ 520 nm เนื่องจากแรง electrostatic repulsion แต่ hydroxyl radical ($HO\cdot$) ที่เกิดจากปฏิกิริยา Fenton สามารถแยก ssDNA ออกจาก AuNPs ได้ จึงทำให้ AuNP เกิดการ Aggregation สีของสารละลายของ AuNPs จึงเปลี่ยนจากสีแดงไปเป็นสีน้ำเงิน และเกิด Plasmon resonance band shift เปลี่ยนไปดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 650 nm ซึ่งปริมาณของ H_2O_2 จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงที่ 520 nm และค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นที่ 650 nm เมื่อพลอต calibration curve ระหว่าง A_{650}/A_{520} กับความเข้มข้นของ H_2O_2 จะได้ช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 2×10^{-7} - 8×10^{-6} และมีค่า LOD เท่ากับ 40 nmol/L เทคนิคนี้นำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวัด H_2O_2 ในตัวอย่างสมองของหนู ให้ recovery ในช่วง 98-103 เปอร์เซ็นต์

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

3.1.1 สารเคมี

- 3.1.1.1 ซิลเวอร์ไนเตรต (AgNO_3)
- 3.1.1.2 โซเดียมโบโรไฮไดรด์ (NaBH_4)
- 3.1.1.3 โซเดียมซีเตรต ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
- 3.1.1.4 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide : H_2O_2)
- 3.1.1.5 โซเดียมออกซาเลต ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$)
- 3.1.1.6 กรดซัลฟูริก (H_2SO_4)
- 3.1.1.7 โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต (KMNO_4)

3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 3.1.2.1 บีกเกอร์ (ขนาด 25 , 50 , 100 , 250 , 1000 มิลลิลิตร)
- 3.1.2.2 ปิเปต (ขนาด 5 , 10 , 25 มิลลิลิตร)
- 3.1.2.3 ไมโครปิเปต (ขนาด 1000 ไมโครลิตร)
- 3.1.2.4 ขวดวัดปริมาตร (ขนาด 10 , 50 , 100 , 250 , 500 มิลลิลิตร)
- 3.1.2.5 บิวเรต (ขนาด 50 มิลลิลิตร)
- 3.1.2.6 ขวดรูปชมพู่ (ขนาด 250 มิลลิลิตร)
- 3.1.2.7 หลอดหยด
- 3.1.2.8 ซ้อนตักสาร
- 3.1.2.9 แท่งแก้วคนสาร
- 3.1.2.10 กรวยกรอง
- 3.1.2.11 จุกยาง
- 3.1.2.12 กระจกบอกลูกกลิ้ง
- 3.1.2.13 กระจกบอกดวง
- 3.1.2.14 peristaltic pump
- 3.1.2.15 6-Ports Injection Valve

- 3.1.2.16 เครื่องชั่งน้ำหนักความละเอียด 4 ตำแหน่ง
- 3.1.2.17 เครื่องปั่นกวน
- 3.1.2.18 เครื่อง UV-visible spectrophotometer (UV-1800-Shimadzu)
- 3.1.2.19 เครื่อง Transmission Electron Microscope (TEM)
- 3.1.2.20 นาฬิกาจับเวลา

3.2 การเตรียมสารเคมี

3.2.1 การเตรียมสารละลายสำหรับการสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโน

- (1) การเตรียมสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตความเข้มข้น 1 mM
ชั่งซิลเวอร์ไนเตรต 42.5 มิลลิกรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นเล็กน้อย แล้วถ่ายสารละลายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น
- (2) การเตรียมสารละลายโซเดียมโบโรไฮไดรไรด์ความเข้มข้น 2 mM
ชั่งโซเดียมโบโรไฮไดรไรด์ 37.80 มิลลิกรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นเล็กน้อย แล้วถ่ายสารละลายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 500 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น
- (3) การเตรียมสารละลายโซเดียมซัลเฟตความเข้มข้น 1 %w/w
ชั่งโซเดียมซัลเฟตจำนวน 0.25 กรัม ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร ละลายด้วยน้ำกลั่นจำนวน 24.75 กรัม

3.2.2 การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

- (1) การเตรียมสารละลายมาตรฐานไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ความเข้มข้น 3300 ppm โดย ปิเปตสารละลายมาตรฐานไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 30 %w/v ปริมาตร 1 มิลลิลิตรใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น (สารละลายมาตรฐานไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะต้องเตรียมใหม่ทุกวัน)
- (2) การเตรียมสารละลายมาตรฐานไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ความเข้มข้น 100 ppm โดย ปิเปตสารละลายมาตรฐานไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 3300 ppm ปริมาตร 300 ไมโครลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น (สารละลายมาตรฐานไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะต้องเตรียมใหม่ทุกวัน)
- (3) การเตรียมสารละลายมาตรฐานไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ความเข้มข้น 20.0, 17.5, 15.0, 12.5, 10.0, 5.0, 2.5, 1.0 และ 0.5 ppm โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 100

ppm ปริมาตร 2000, 1750, 1500, 1250, 1000, 500, 250 ไมโครลิตร และความเข้มข้น 10 ppm ปริมาตร 1000 และ 500 ไมโครลิตร ตามลำดับ ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น (สารละลายมาตรฐานไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะต้องเตรียมใหม่ทุกวัน)

(4) การเตรียมสารละลายมาตรฐานโปแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต ความเข้มข้น 0.1 M ซึ่งสารมาตรฐานโปแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตน้ำหนัก 15.8034 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 250 มิลลิลิตร เทสารละลายใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

3.3 วิธีดำเนินการทดลอง

3.3.1 การสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโน

การสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโนได้ดำเนินการตามวิธีของ Behzad Haghighi และ Somayyeh Bozorgzadeh [39] โดยใช้กระบวนการการสังเคราะห์โดยปฏิกิริยรีดักชัน ทำได้โดยนำสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต (เข้มข้น 1 mM) มา 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 1000 มิลลิลิตร แล้วปั่นกวนที่ 1000 รอบต่อนาที เติมสารละลายโซเดียมซิติเรต (เข้มข้น 1 %w/w) จำนวน 10 มิลลิลิตร จากนั้นค่อยๆ หยดสารละลายโซเดียมโบโรไฮไดรไรด์ (เข้มข้น 2 mM) จำนวน 150 มิลลิลิตร จากบิวเรตลงในสารละลายผสม พร้อมกับปั่นกวนไปด้วย จนสารละลายโซเดียมโบโรไฮไดรไรด์หมดจะสังเกตเห็นสารละลายสีเหลืองใสปรากฏขึ้น ปั่นกวนต่ออีก 20 นาที จากนั้นถ่ายสารละลายผสมใส่ขวด นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 2 วัน ก่อนนำไปใช้งาน (ความเข้มข้น AgNPs หลังการสังเคราะห์เท่ากับ 0.24 mM) ทำการเจือจาง AgNPs ลง 4 เท่า (ความเข้มข้น 0.06 mM) เวลาที่นำไปวิเคราะห์จริง (ดูการเลือกความเข้มข้นของ AgNPs ที่เหมาะสม)

3.3.2 ศึกษาขนาดของอนุภาคเงินระดับนาโน

ศึกษาขนาดของ AgNPs ทำได้โดยการนำสารละลาย AgNPs ความเข้มข้น 0.24 mM ไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Transmission Electron Microscope (TEM)

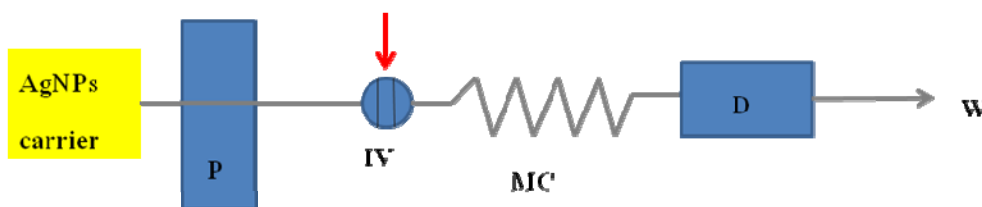
3.3.3 ศึกษาความยาวคลื่นสูงสุดของอนุภาคเงินระดับนาโน

วิธีที่พัฒนาขึ้นนี้เป็นการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยการติดตามการลดลงของค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย AgNPs ดังนั้นค่าความยาวคลื่นสูงสุดที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จึงเป็นค่าความยาวคลื่นสูงสุดของสารละลาย AgNPs

ทำการศึกษาความยาวคลื่นสูงสุดของ AgNPs โดยเทสารละลาย AgNPs ความเข้มข้น 0.24 mM ใต้ คิวเวท ทำการสแกนสเปกตรัมตั้งแต่ความยาวคลื่น 200 nm ถึง 800 nm แล้วนำสเปกตรัมที่ได้หาค่าความยาว คลื่นที่สูงสุดเพื่อใช้ติดตามการลดลงของค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย AgNPs

3.3.4 การวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยระบบไหล (FIA) อย่างง่าย

เมื่อทำการศึกษาความเป็นไปได้ของปฏิกิริยาในการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยใช้ออกุภาคเงินระดับนาโนแล้วได้นำหลักการวิเคราะห์ข้างต้นมาประยุกต์ร่วมกับระบบ FIA โดยในขั้น แรกได้ออกแบบระบบ FIA ดังรูปที่ 3.1 รูปแสดงระบบ FIA สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ ออกไซด์



รูปที่ 3.1 รูปแสดงระบบ FIA สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยสารละลาย AgNPs ใช้เป็น carrier, P คือ peristaltic pump, IV คือ injection valve, MC คือ ส่วนที่เกิดปฏิกิริยาในท่อ (ใช้ท่อ PTFE), D คือ spectrophotometer และ W คือภาชนะใส่ของเสีย

สารละลาย AgNPs ถูกปั๊มเข้ามาเป็น carrier แล้วสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะถูกฉีดเข้า มาทาง injection valve เพื่อทำปฏิกิริยากับ AgNPs ในส่วนท่อเกิดปฏิกิริยา สุดท้ายสารจะถูกตรวจวัดด้วย spectrophotometer

3.3.5 การศึกษาสถานะที่เหมาะสมของระบบ FIA สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

ในการศึกษาสถานะที่เหมาะสมจะทำการปรับเปลี่ยนอิทธิพลที่ต้องการศึกษาในขณะที่กำหนดให้ อิทธิพลอื่นๆ คงที่

ตารางที่ 3.1 แสดงตัวแปรในการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของระบบ FIA สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

พารามิเตอร์	ช่วงในการศึกษา
ความเข้มข้นของสารละลาย AgNPs	0.06 , 0.12 และ 0.24 mM
อิทธิพลของอัตราการไหล	0.5 และ 1 mL/min.
อิทธิพลของความยาวของ mixing coil	100 และ 200 cm
อิทธิพลของขนาด sample loop	100 , 300 และ 400 μ L

3.3.6 การศึกษาคุณลักษณะเด่นของระบบ FIA ที่พัฒนาขึ้นสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

3.3.6.1 ศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง

- (1) นิดสารละลายมาตรฐานไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 10.0, 12.5, 15.0, 17.5 และ 20.0 ppm เข้าสู่ระบบ FIA ที่พัฒนาขึ้น โดยนิตความเข้มข้นละ 2 ซ้ำ
- (2) นำค่าสัญญาณที่บันทึกได้จากเครื่องตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงมาสร้างกราฟมาตรฐาน

3.3.6.2 ศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดสำหรับการตรวจวัดและการวิเคราะห์เชิงปริมาณ

นิตสารละลายแบลงค์ (น้ำกลั่น) เข้าสู่ระบบ FIA ที่พัฒนาขึ้นซ้ำ 10 ครั้ง นำค่าสัญญาณที่บันทึกได้จากเครื่องตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสง มาคำนวณเป็นความเข้มข้น แล้วหาค่าเฉลี่ยของความเข้มของแบลงค์ จะได้

$$\text{LOD} = 3 \times (\text{ความเข้มของแบลงค์})$$

$$\text{LOQ} = 10 \times (\text{ความเข้มของแบลงค์})$$

3.3.6.3 ศึกษาความเที่ยง

นิตสารละลายแบลงค์ (น้ำกลั่น) เข้าสู่ระบบ FIA ที่พัฒนาขึ้นซ้ำ 10 ครั้ง นำค่าสัญญาณที่บันทึกได้จากเครื่องตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสง มาคำนวณเป็นความเข้มข้น แล้วคำนวณหาค่า RSD

3.3.7 นำระบบ FIA ที่ได้พัฒนาขึ้นมาประยุกต์ใช้วิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในตัวอย่างยาล้างแผลและน้ำยาซักผ้าขาว

3.3.7.1 การเตรียมตัวอย่าง

- ตัวอย่างยาล้างแผล (3 %w/v)

- (1) ปิเปิดตัวอย่างมา 100 μ L ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น
- (2) ปิเปิดสารละลายจากข้อ 1 มา 400 μ L ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 mL ปรับปริมาตร

ด้วยน้ำกลั่น

- ตัวอย่างน้ำยาซักผ้าขาว (5 %w/v)

- (1) ปิเปิดตัวอย่างมา 100 μ L ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น
- (2) ปิเปิดสารละลายจากข้อ 1 มา 200 μ L ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 mL ปรับปริมาตร

ด้วยน้ำกลั่น

- ตัวอย่างน้ำยาซักผ้าขาว (7.5 %w/v)

- (1) ปิเปิดตัวอย่างมา 100 μ L ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น
- (2) ปิเปิดสารละลายจากข้อ 1 มา 200 μ L ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 mL ปรับปริมาตร

ด้วยน้ำกลั่น

3.3.7.2 การวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่มีในตัวอย่าง

- (1) นิตสารตัวอย่างที่เจือจางแล้วเข้าสู่ระบบ FIA ที่พัฒนาขึ้น โดยนิตตัวอย่างละ 2 ซ้ำ โดยจะต้องทำวันเดียวกันกับการสร้างกราฟมาตรฐาน
- (2) นำค่าสัญญาณที่บันทึกได้จากเครื่องตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณหาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จากกราฟมาตรฐาน

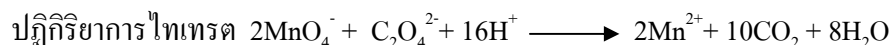
3.3.8 วิธี titration method (validation) [40]

3.3.8.1 การ standardization สารละลายมาตรฐานโปแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตความเข้มข้น 0.1 M

- (1) ชั่งสารมาตรฐานปฐมภูมิโซเดียมออกซาลेट 0.3350 กรัม ใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร
- (2) เติมกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.75 M. ปริมาตร 75 มิลลิลิตร ลงไปในขวดรูปชมพู่เพื่อละลายสารมาตรฐานปฐมภูมิโซเดียมออกซาลेट

(3) ให้ความร้อนแก่สารละลายมาตรฐานจนมีอุณหภูมิ 80 – 90 °C

(4) ไทเทรตด้วยสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตความเข้มข้น 0.1 M ขณะที่สารละลายยังร้อนอยู่ และจะต้องควบคุมอุณหภูมิไม่ให้ต่ำกว่า 60 °C ตลอดการไทเทรต (ที่จุดยุติจะเห็นสีของสารละลายเปลี่ยนจากสีไปเป็นสีชมพูอ่อน)



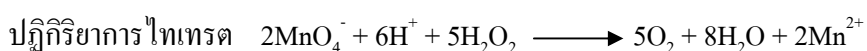
3.3.8.2 การหาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่มีในตัวอย่างโดยการไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตความเข้มข้น 0.1 M

(1) ปิเปตสารตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร ใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร

(2) เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร

(3) ค่อยๆเติมกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 3.0 M ปริมาตร 15 มิลลิลิตรลงไป แล้วผสมสารละลายทั้งหมดให้เข้ากัน

(4) ไทเทรตด้วยสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตความเข้มข้น 0.1 M (ที่จุดยุติจะเห็นสีของสารละลายเปลี่ยนจากสีไปเป็นสีชมพูอ่อน)

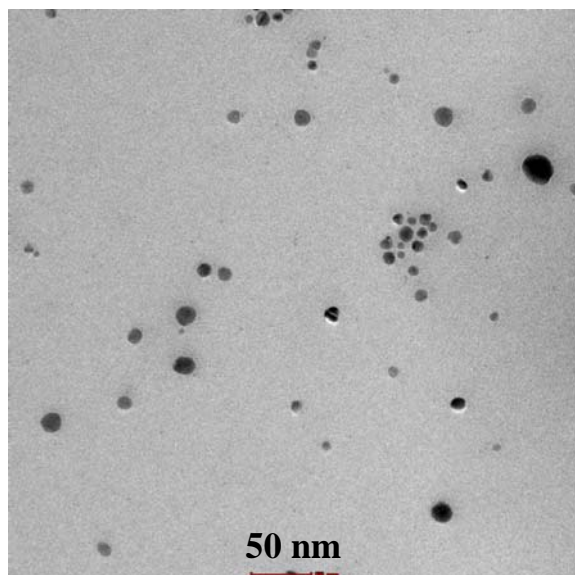


บทที่ 4

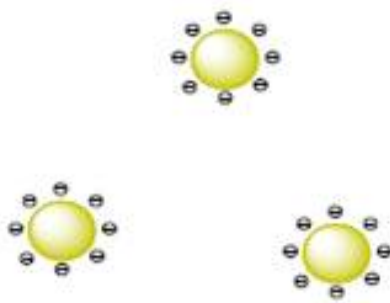
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 การศึกษาคุณลักษณะของอนุภาคเงินระดับนาโน

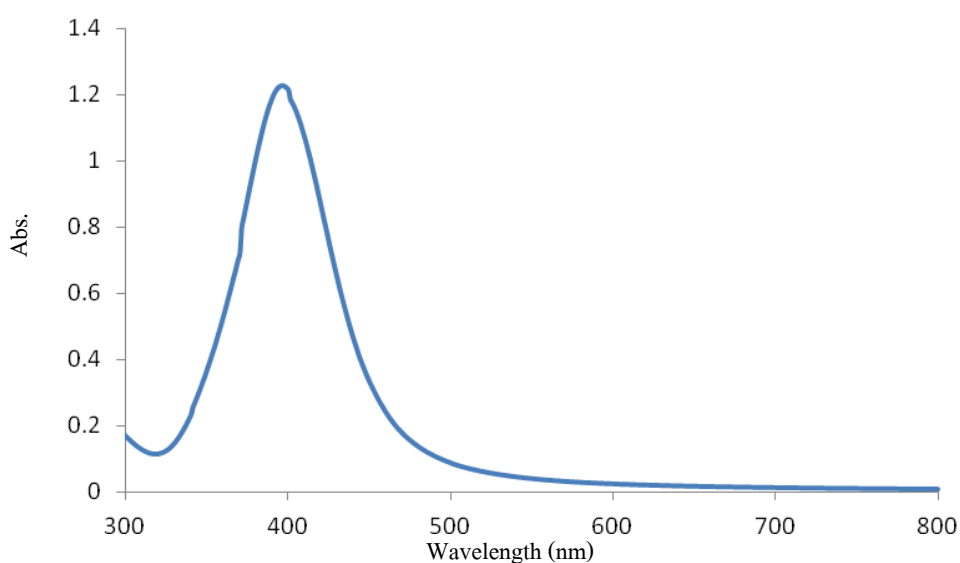
หลังจากเตรียมอนุภาคเงินระดับนาโนได้เป็นเวลา 2 วัน แล้วจึงนำอนุภาคเงินที่สังเคราะห์ได้ไปตรวจวัดด้วยเครื่อง TEM เพื่อดูขนาดของอนุภาคเงินระดับนาโนที่สังเคราะห์ได้ และเครื่อง UV-vis spectrophotometer เพื่อศึกษาสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสาร พบว่า อนุภาคเงินระดับนาโนที่สังเคราะห์ได้มีความเข้มข้นของอนุภาค 0.24 mM สีของสารละลายมีสีเหลืองใส ขนาดของอนุภาคมีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 10.66 ± 3.96 nm ดังแสดงในรูปที่ 4.1 ซึ่งอนุภาคแต่ละอนุภาคสามารถเสถียรจากการ Aggregate เข้าหากันในสารละลายอยู่ได้ด้วยประจุลบของไอออนซิเตรตที่ล้อมรอบอนุภาคนาโนอยู่ ซึ่งแรงทางไฟฟ้าจะต้านแรงแวนเดอร์วาลระหว่างโมเลกุล จึงทำให้ Ag NPs กระจายอยู่ในสารละลายอย่างเป็นอิสระกัน ดังแสดงในรูปที่ 4.2 และพบค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น (λ_{max}) เท่ากับ 398 nm ดังแสดงในรูปที่ 4.3 ดังนั้นวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้จะหาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยการติดตามการลดลงของค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ของสารละลาย AgNPs ที่ความยาวคลื่น 398 nm.



รูปที่ 4.1 แสดงภาพที่ถ่ายได้ด้วยเครื่อง TEM ของอนุภาคเงินระดับนาโนที่สังเคราะห์ได้



รูปที่ 4.2 แสดงให้เห็นถึง AgNPs ที่เสถียรด้วยประจุลบของไอออน citrate

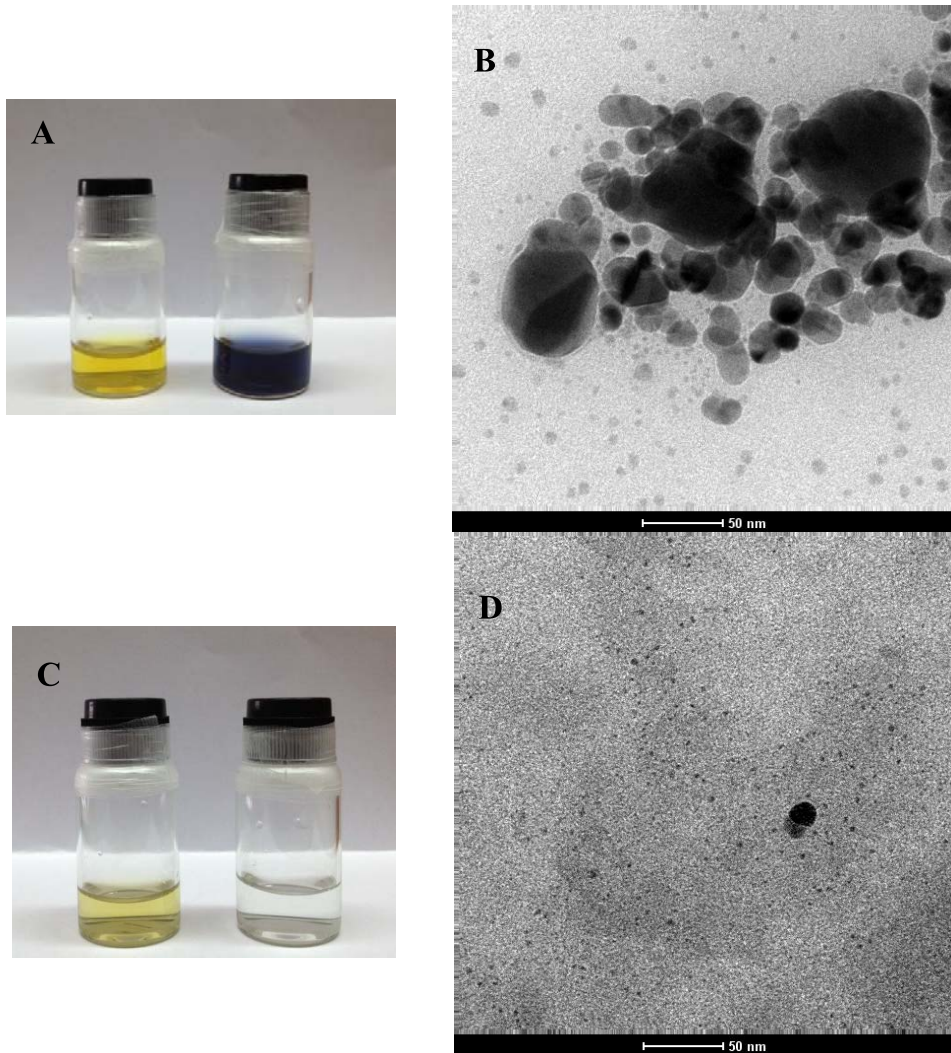


รูปที่ 4.3 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายของอนุภาคเงินระดับนาโนที่สังเคราะห์ได้

4.2 การศึกษาปฏิกิริยาเคมีระหว่างอนุภาคเงินระดับนาโนกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

การศึกษาปฏิกิริยาเคมีระหว่าง AgNPs กับ H_2O_2 3%w/v ของสารละลาย H_2O_2 ได้ถูกเติมลงไปในการละลาย AgNPs ความเข้มข้น 0.24 และ 0.06 mM พบว่า เมื่อเติม 3%w/v H_2O_2 ลงใน สารละลาย AgNPs ความเข้มข้น 0.24 mM สีของสารละลายเปลี่ยนจากสีเหลืองไปเป็นสีน้ำเงิน ดังรูปที่ 4.4 (A) เมื่อนำสารละลายผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปตรวจวัดด้วยเครื่อง TEM พบว่า AgNPs มีขนาดใหญ่ขึ้น มีเส้นศูนย์กลางเฉลี่ย

มากกว่า 50 nm ดังรูปที่ 4.4 (B) ซึ่งเป็นผลมาจากการเติม H_2O_2 ทำให้ AgNPs เกิดการ Aggregation เข้าหากัน จึงทำให้สีของสารละลาย AgNPs เปลี่ยนจากสีเหลืองไปเป็นสีน้ำเงิน



รูปที่ 4.4 แสดงสีของสารละลาย และภาพถ่าย TEM เมื่อเติม 3%w/v H_2O_2 ลงในสารละลาย AgNPs ความเข้มข้น 0.24 mM (A,B) และ 0.06 mM (C,D) ตามลำดับ

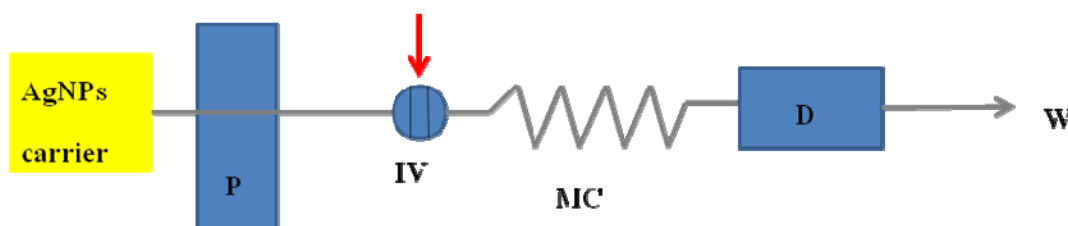
เมื่อเติม 3%w/v H_2O_2 ลงใน สารละลาย AgNPs ความเข้มข้น 0.06 mM สีของสารละลายเปลี่ยนจากสีเหลืองไปเป็นใสไม่มีสี ดังรูปที่ 4.4 (C) เมื่อนำสารละลายผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปตรวจวัดด้วยเครื่อง TEM ก็

ไม่พบอนุภาคใดปรากฏอยู่ ดังรูปที่ 4.4 (D) ซึ่งเป็นผลมาจาก H_2O_2 ที่เติมลงไปนั้นไปออกซิไดซ์ AgNPs (Ag^0) ให้กลายเป็นไอออน (Ag^+) จึงทำให้สีเหลืองของสารละลาย AgNPs ลดลง

ดังนั้นเราจึงสามารถวิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 ได้โดยใช้สารละลาย AgNPs ความเข้มข้น 0.06 หรือ 0.24 mM ก็ได้ โดยหากใช้สารละลาย AgNPs ความเข้มข้น 0.06 mM ก็จะหาปริมาณ H_2O_2 ได้โดยการติดตามการลดลงของสีเหลือง หรือหากใช้สารละลาย AgNPs ความเข้มข้น 0.06 mM ก็จะหาปริมาณ H_2O_2 ได้โดยการติดตามการลดลงของสีเหลือง หรือการเพิ่มขึ้นของสีน้ำเงิน

4.3 การพัฒนาระบบ FIA สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

เมื่อทำการศึกษาความเป็นไปได้ของปฏิกิริยาในการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยใช้อนุภาคเงินระดับนาโนแล้วได้นำหลักการวิเคราะห์ข้างต้นมาประยุกต์ร่วมกับระบบ FIA โดยในขั้นแรกได้ออกแบบระบบ FIA ดังรูปที่ 4.5 รูปแสดงระบบ FIA สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์



รูปที่ 4.5 รูปแสดงระบบ FIA สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยสารละลาย AgNPs ใช้เป็น carrier, P คือ peristaltic pump, IV คือ injection valve, MC คือ ส่วนที่เกิดปฏิกิริยาในท่อ (ใช้ท่อ PTFE), D คือ spectrophotometer และ W คือภาชนะใส่ของเสีย

สารละลาย AgNPs ถูกปั๊มเข้ามาเป็น carrier แล้วสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะถูกฉีดเข้ามาทาง injection valve เพื่อทำปฏิกิริยากับ AgNPs ในส่วนท่อเกิดปฏิกิริยา และการลดลงของสีเหลืองของสารละลาย AgNPs จะถูกตรวจวัดด้วย spectrophotometer

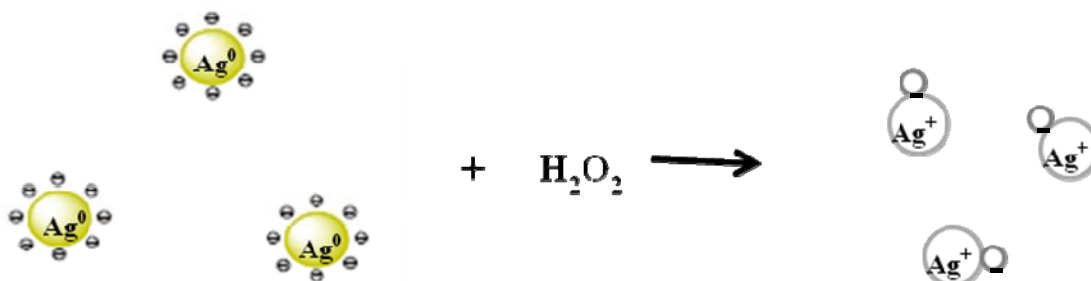
4.4 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของระบบ FIA สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

4.4.1 ความเข้มข้นของอนุภาคเงินระดับนาโน

จากการศึกษาปฏิกิริยาเคมีระหว่าง AgNPs กับ H_2O_2 ในข้างต้น จึงได้คัดเลือกความเข้มข้นของ AgNPs ที่เหมาะสม โดยการเติม 3, 0.03, 0.003 %w/v H_2O_2 ลงในสารละลาย AgNPs ความเข้มข้น 0.06 , 0.12 และ 0.24 mM พบว่า สีของสารละลาย AgNPs ความเข้มข้น 0.06 mM เปลี่ยนจากสีเหลืองไปเป็นใส ไม่มีสีในทุกความเข้มข้นของ H_2O_2 ที่เติมลงไป ส่วนสีของสารละลาย AgNPs ความเข้มข้น 0.12 mM เปลี่ยนจากสีเหลืองไปเป็นใสไม่มีสี และสีของสารละลาย AgNPs ความเข้มข้น 0.24 mM เปลี่ยนจากสีเหลืองไปเป็นสีน้ำเงินเฉพาะการเติม 3 %w/v H_2O_2 ลงไปเท่านั้น ดังนั้นจึงเลือกใช้ 0.06 mM AgNPs สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 เนื่องจากทำให้เห็นการเปลี่ยนแปลงในช่วงความเข้มข้นที่กว้างกว่า ดังแสดงในตารางที่ 4.1 โดยปฏิกิริยาที่ใช้ในการวิเคราะห์คือ AgNPs หรือ Ag^0 ถูก H_2O_2 ออกซิไดซ์ให้เป็นเงินไอออน (Ag^+) และจับกับประจุลบของไอออน citrate เป็นสารประกอบที่ไม่มีสี ดังแสดงในรูปที่ 4.6 ดังนั้นวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้จึงวิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 โดยการติดตามการลดลงของสีเหลืองของสารละลาย AgNPs

ตารางที่ 4.1 สรุปการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย AgNPs ความเข้มข้น 0.06, 0.12 และ 0.24 mM เมื่อมีการเติม 0.003, 0.03 และ 3 %w/v H_2O_2

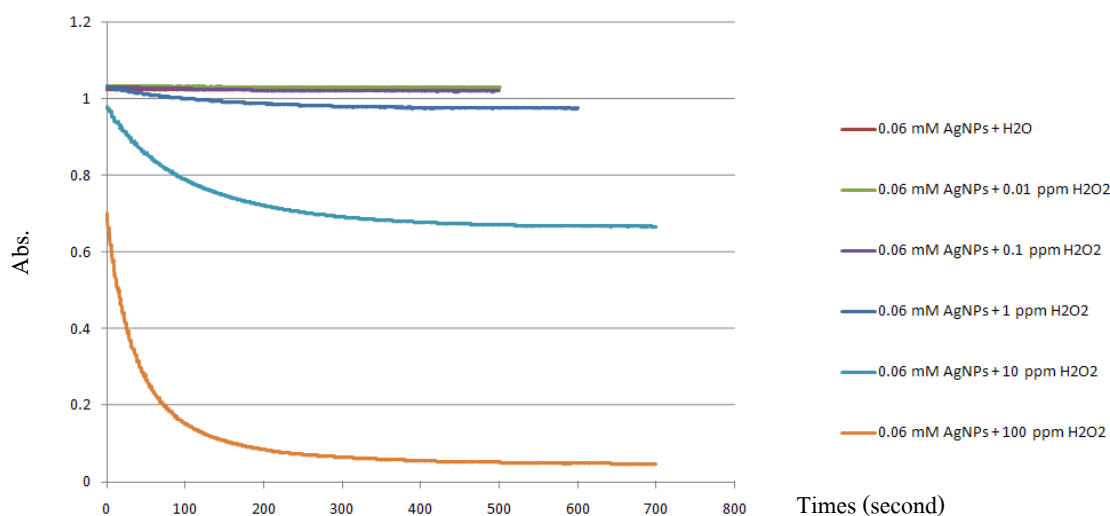
Conc. of H_2O_2 (%w/v)	0.06 mM AgNPs	0.12 mM AgNPs	0.24 mM AgNPs
0.003	Yellow to colorless	No change	No change
0.030	Yellow to colorless	No change	No change
3.000	Yellow to colorless	Yellow to colorless	Yellow to blue



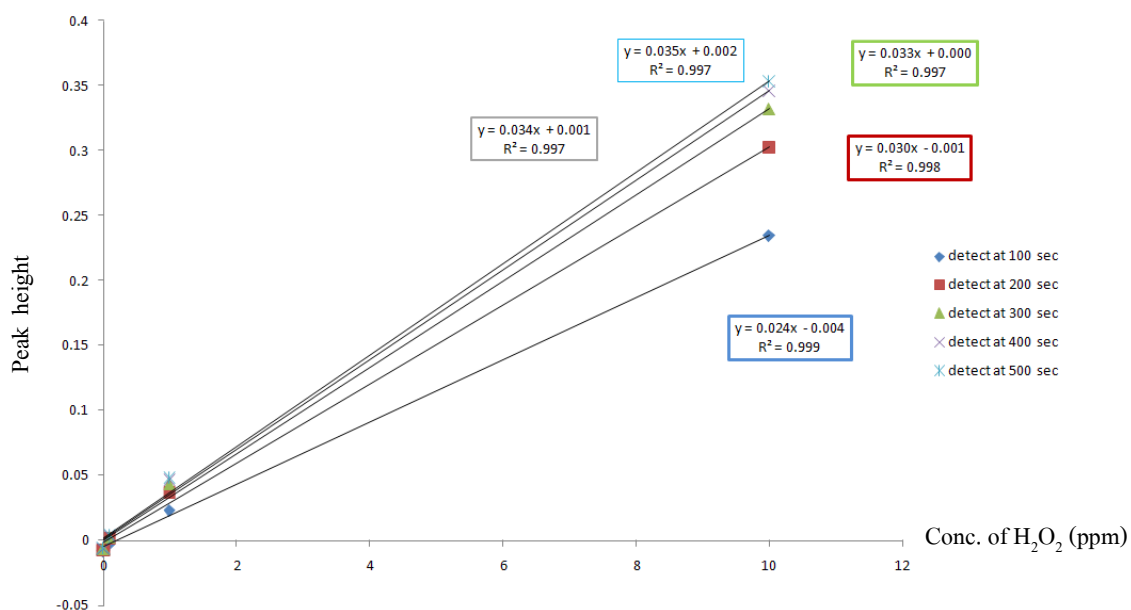
รูปที่ 4.6 แสดงปฏิกิริยาระหว่างอนุภาคเงินระดับนาโนและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

4.4.2 การศึกษา kinetic ของปฏิกิริยาระหว่างอนุภาคเงินระดับนาโนและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

ทำการทดลองโดยเติม H_2O_2 ความเข้มข้น 0.01 , 0.1, 1, 10, 100 ppm จำนวน 300 μL ลงในสารละลาย 0.06 mM AgNPs จำนวน 2700 μL ที่อยู่ในคิวเวท ใส่คิวเวทลงในเครื่อง UV-vis spectrophotometer แล้วกดบันทึกสัญญาณภายใน 10 วินาที โดยใช้โปรแกรม time course measurement และใช้น้ำกลั่นเป็น control พบว่าค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ 398 nm ค่อยๆลดลงตามเวลาที่เพิ่มมากขึ้น และจะคงที่ที่ค่า Absorbance หนึ่ง โดยการเติม H_2O_2 ความเข้มข้นสูงสุดคือ 100 ppm จะมีอัตราการลดลงของค่า Absorbance มากที่สุด และจะคงที่ที่ค่า Absorbance ที่ต่ำที่สุด ดังแสดงในรูปที่ 4.7 เมื่อนำค่า peak height ที่เวลา 100, 200, 300, 400 และ 500 วินาที มาพลอตกราฟเทียบกับความเข้มข้นของ H_2O_2 พบว่าในช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.01 – 10 ppm และพบว่าการตรวจวัดที่ 100 วินาที ให้ sensitivity ต่ำที่สุด แต่ตั้ง 200 วินาทีขึ้นไปมี sensitivity ที่ไม่แตกต่างกันอย่างนัยสำคัญ ดังแสดงในรูปที่ 4.8 ดังนั้นจึงเลือกที่จะตรวจวัดที่ 200 วินาที เพื่อให้มี sensitivity ในการวิเคราะห์ที่ดี และใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยที่สุด สำหรับการวิเคราะห์แบบ batch แต่จะใช้หลักการนี้ไปใช้สำหรับการคัดเลือกความยาวของ mixing coil , อัตราการไหล และขนาดของ sample loop ในระบบ FIA ต่อไป



รูปที่ 4.7 แสดง Absorption kinetic ของปฏิกิริยาระหว่าง AgNPs กับ H_2O_2



รูปที่ 4.8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสูงของสัญญาณการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของ H_2O_2

4.4.3 อิทธิพลของความยาวของ mixing coil

ทำการทดลองใช้ Mixing coil ความยาว 100 และ 200 เซนติเมตร โดยใช้สารละลาย 0.06 mM AgNPs เป็น carrier ที่มีอัตราการไหล 0.5 ,1 และ 2 มิลลิลิตรต่อนาที และใช้ sample loop ขนาด 300 ไมโครลิตร พบว่า Mixing coil ความยาว 100 เซนติเมตรนั้นให้สัญญาณไม่เป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของ H_2O_2 ซึ่งเป็นผลมาจากเวลาในการผสมกันระหว่าง AgNPs และ H_2O_2 น้อยเกินไป เนื่องจากกระยะทางสั้นเกินไป ดังนั้นจึงเลือกใช้ mixing coil ความยาว 200 เซนติเมตร เพื่อให้มีเวลาและระยะทางมากพอสำหรับการผสมกันและเกิดปฏิกิริยา และพบความเป็นเส้นตรงเมื่อใช้อัตราการไหล 0.5 และ 1 มิลลิลิตรต่อนาที หากใช้ mixing coil ที่ยาวกว่านี้จะทำให้ใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน และเกิดการ disperse ท่อนสารตัวอย่างกลายเป็นท่อนโซนที่กว้างมากขึ้นเกินไป ซึ่งจะทำให้พิคสัญญาณที่ได้มีสัญญาณต่ำและเป็นพิคหัวแตก

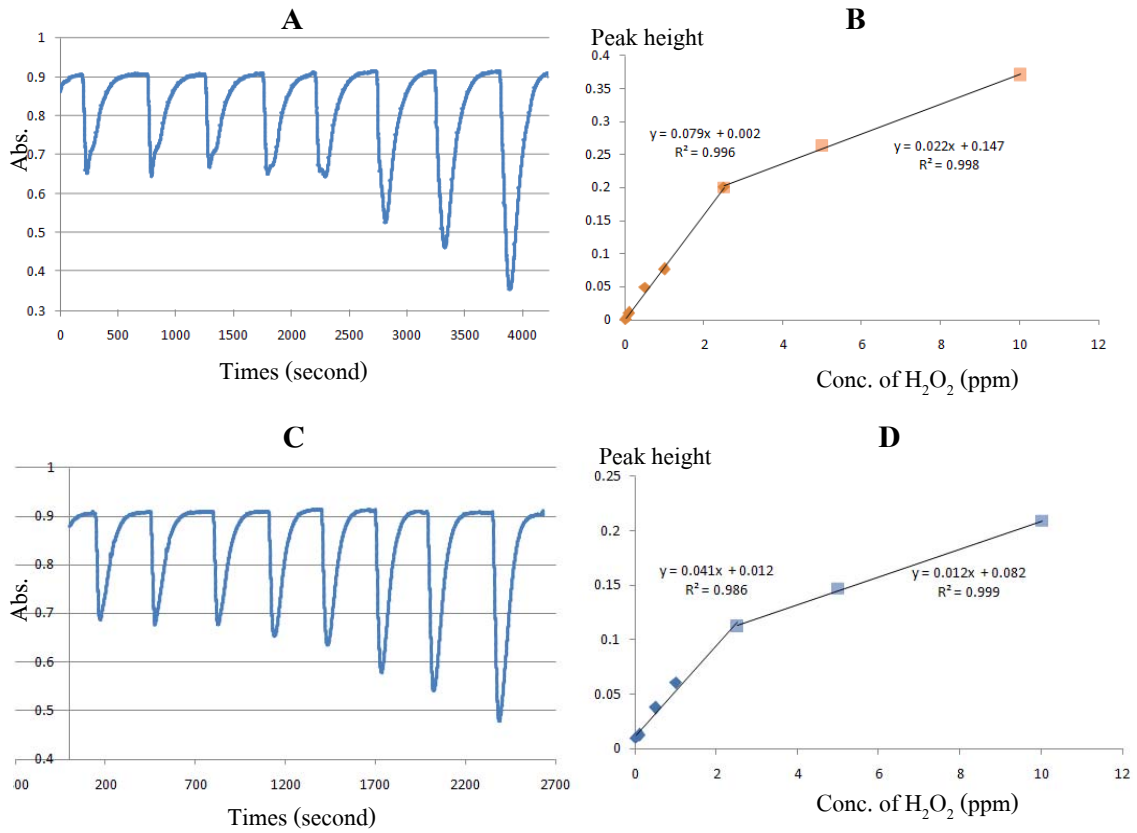
4.4.4 อิทธิพลของอัตราการไหล

ทำการทดลองซ้ำจากการทดลองเพื่อเลือกความยาว mixing coil ที่เหมาะสม โดยการฉีดสารละลายมาตรฐาน H_2O_2 ความเข้มข้น 0.01, 0.1, 0.5, 1, 2.5, 5 และ 10 ppm เข้าสู่ระบบที่มีสารละลาย 0.06 mM AgNPs เป็น carrier ด้วยอัตราการไหล 0.5 และ 1 มิลลิลิตรต่อนาที ใช้ sample loop ขนาด 300 ไมโครลิตร และใช้ mixing coil ยาว 200 เซนติเมตร พบว่าอัตราการไหลทั้งสองให้ช่วงความเป็นเส้นตรง 2 ช่วง

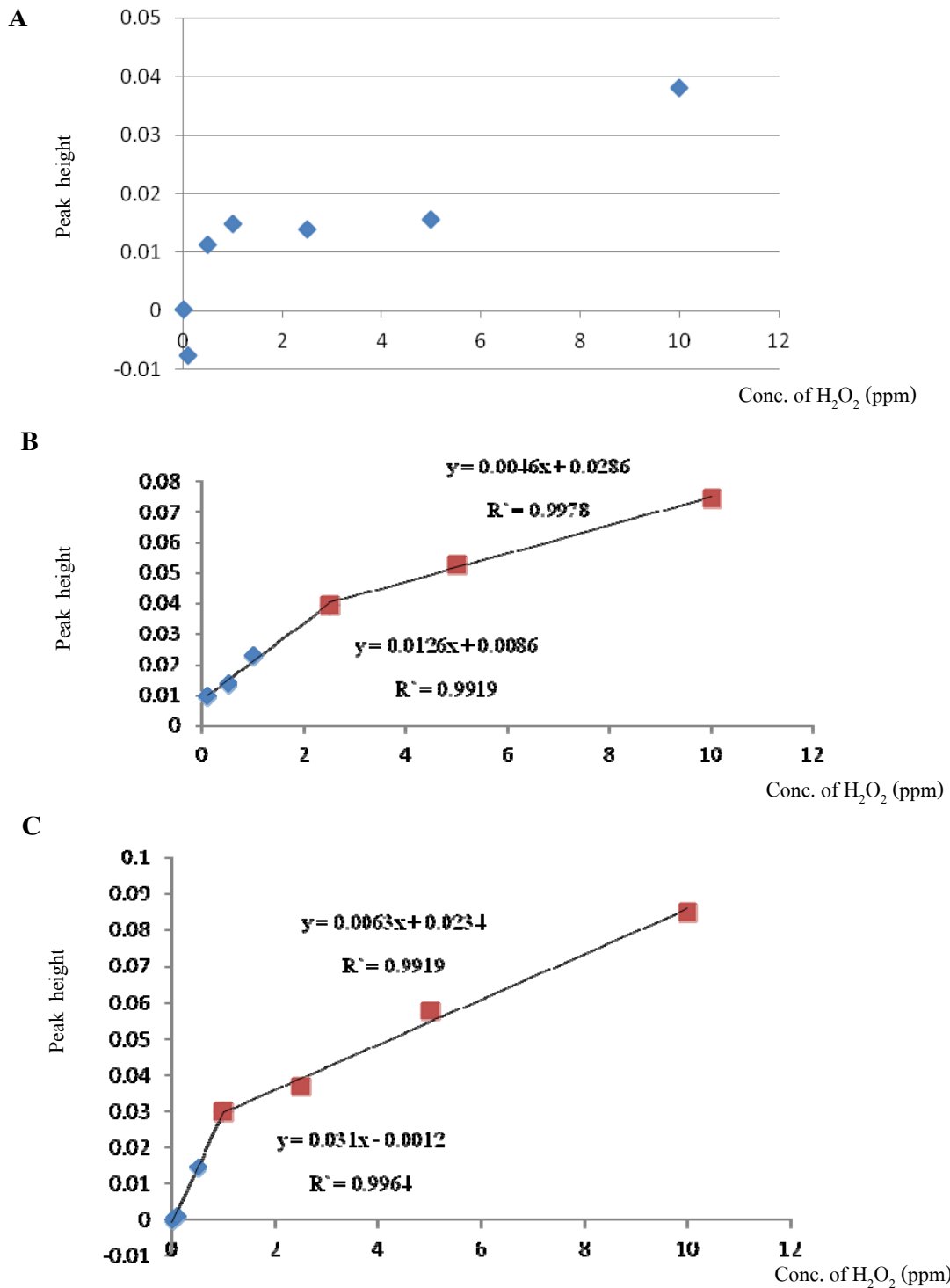
เหมือนกัน คือช่วง 0.01 – 2.5 ppm และช่วง 2.5 – 10 ppm ดังแสดงในรูปที่ 4.9 (B,D) แต่การใช้อัตราการไหล 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที ทำให้พีคที่ได้เป็นพีคหัวแตก ดังแสดงในรูปที่ 4.9 (A) ซึ่งเป็นผลมาจากการ disperse ทำให้ท่อนโซนของสารละลายมาตรฐาน H_2O_2 กว้างมากขึ้น จึงทำให้การผสมกันเกิดขึ้นได้ไม่ดี ส่งผลสัญญาณที่ได้เป็นพีคหัวแตก ดังนั้นจึงเลือกใช้อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที เนื่องจากให้พีคสัญญาณที่เป็น sharp peak ดังแสดงในรูปที่ 4.9 (C) และให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วงเดียวกันกับการใช้อัตราการไหล 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที

4.4.5 อิทธิพลของขนาด sample loop

ทำการทดลองโดยการสารละลายมาตรฐาน H_2O_2 ความเข้มข้น 0.01, 0.1, 0.5, 1, 2.5, 5 และ 10 ppm ปริมาตร 100, 300 และ 400 μL เข้าสู่ระบบที่มีสารละลาย 0.06 mM AgNPs เป็น carrier ด้วยอัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที และใช้ mixing coil ยาว 200 เซนติเมตร พบว่า การใช้ sample loop ขนาด 100 μL ทำให้สัญญาณที่ได้ไม่เป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของ H_2O_2 ดังแสดงในรูปที่ 4.10 (A) จึงไม่ใช้ sample loop ขนาด 100 μL ส่วนการใช้ sample loop ขนาด 300 และ 400 μL นั้นให้ช่วงความเป็นเส้นตรง 2 ช่วง เช่นเดียวกัน โดยการใช้ sample loop ขนาด 300 μL ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.01 – 2.5 และ 2.5 – 10 ppm ดังแสดงในรูปที่ 4.10 (B) และการใช้ sample loop ขนาด 400 μL ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.01 – 1 และ 1 – 10 ppm ดังแสดงในรูปที่ 4.10 (C) ซึ่งเนื่องจากการใช้ sample loop ขนาด 400 μL ให้ sensitivity ในการตรวจวัดที่สูงกว่า และให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้นที่กว้างกว่า จึงเลือกใช้ sample loop ขนาด 400 μL



รูปที่ 4.9 (A) และ (C) แสดงสัญญาณที่วัดได้จากการฉีดสารละลายมาตรฐาน H_2O_2 ความเข้มข้น 0.01, 0.1, 0.5, 1, 2.5, 5 และ 10 ppm เข้าสู่ระบบ FIA ที่มีสารละลาย 0.06 mM AgNPs เป็น carrier ด้วยอัตราการไหล 0.5 และ 1 mL/min ตามลำดับ โดยใช้ mixing coil ยาว 200 cm. และ sample loop ขนาด 300 μ L (B) และ (D) แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง peak height และความเข้มข้นของ H_2O_2 ที่ใช้อัตราการไหลของ carrier เท่ากับ 0.5 และ 1 mL/min ตามลำดับ



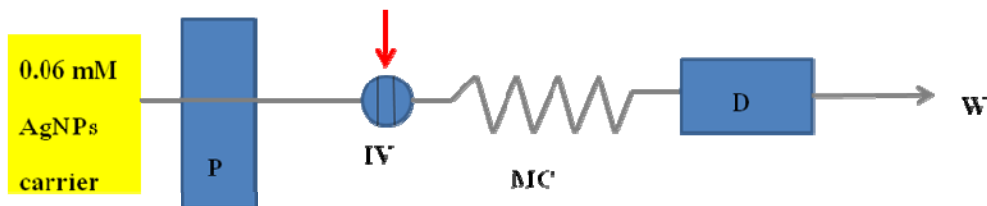
รูปที่ 4.10 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสูงของสัญญาณการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของ H_2O_2 เมื่อใช้ sample loop ขนาด 100 (A) , 300 (B) และ 400 μL (C) ในระบบ FIA ที่มีสารละลาย 0.06 mM AgNPs เป็น carrier ที่ไหลด้วยอัตราการไหล 1 mL/min. และใช้ mixing coil ยาว 200 cm.

จากการศึกษาพารามิเตอร์ต่างๆเพื่อหาค่าที่เหมาะสมสำหรับระบบ FIA ที่ใช้สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 โดยใช้ AgNPs เป็นตัวติดตาม เพื่อให้วิธีที่พัฒนาขึ้นมีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์สูงสุด พบว่าพารามิเตอร์ต่างๆ ควรใช้ค่าดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2

พารามิเตอร์	ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์
ความเข้มข้นของสารละลาย AgNPs	0.06 mM
ความยาวของ mixing coil	200 cm
อัตราการไหล	1 mL/min.
ขนาด sample loop	400 μ L

ดังนั้นระบบ FIA ที่พัฒนาขึ้นเพื่อใช้สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 โดยใช้ AgNPs เป็นตัวติดตาม จึงมีระบบดังรูปที่ 4.11



รูปที่ 4.11 แสดงระบบ FIA ที่พัฒนาขึ้นอย่างสมบูรณ์สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ H_2O_2 โดยใช้ AgNPs เป็นตัวติดตาม ซึ่งใช้สารละลาย 0.06 mM AgNPs เป็น carrier , P = Peristaltic pump (flow rate 1 ml/min)

IV = Injection valve (sample loop 400 μ L), MC = Mixing coil (1 mm i.d. \times 200 cm.),

D = spectrophotometer detect at 398 nm., W = waste

4.5 การศึกษาคุณลักษณะเด่นของระบบ FIA ที่พัฒนาขึ้น

4.5.1 ช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity range)

ทำการทดลองโดยการฉีดสารละลายมาตรฐาน H₂O₂ ความเข้มข้น 0.5, 1, 2.5, 5, 10, 12.5, 15, 17.5 และ 20 ppm เข้าสู่ระบบ FIA ที่พัฒนาขึ้นและบันทึกสัญญาณซ้ำความเข้มข้นละ 2 ครั้ง โดยใช้ น้ำกลั่นเป็นตัวควบคุม ดังแสดงในรูปที่ 4.12 เมื่อนำมาพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความสูงของพีการดูดกลืนแสงและความเข้มข้น H₂O₂ พบว่ามีช่วงความเป็นเส้นตรง 2 ช่วง คือช่วง 0.495 – 4.95 ppm และช่วง 9.9 – 19.8 ppm ดังแสดงในรูปที่ 4.13 แต่เนื่องจากจุดแรกของช่วงความเป็นเส้นตรงแรกที่สัญญาณใกล้เคียงกับแบลงค์มากเกินไป และช่วงความเข้มข้นต่ำกว่าค่า LOQ (ดูการหา LOD และ LOQ) จึงเลือกใช้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด ในช่วงความเข้มข้น 9.9 – 19.8 ppm ในการนำไปวิเคราะห์หาปริมาณ H₂O₂ ในตัวอย่างต่อไป โดยมีสมการเส้นตรง
$$\text{peak height} = 0.008 \times [\text{H}_2\text{O}_2] + 0.230$$

4.5.2 ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) และการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (LOQ)

จากการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงก็ได้ทำการทดลองเพื่อหาค่า LOD และ LOQ ไปพร้อมๆกัน ทำการศึกษาโดยการฉีดสารละลายแบลงค์ (น้ำกลั่น) เข้าสู่ระบบ FIA ที่พัฒนาขึ้นและบันทึกสัญญาณซ้ำ 10 ครั้ง ดังแสดงในรูปที่ 4.12 ซึ่งได้สัญญาณดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 แสดงค่าสัญญาณที่ได้จากสารละลายแบลงค์

No	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Mean
Peak height	0.24	0.238	0.245	0.232	0.23	0.25	0.247	0.237	0.242	0.251	0.241
Conc.	0.462	0.458	0.471	0.446	0.442	0.481	0.475	0.456	0.465	0.482	0.463

เมื่อสารละลายมาตรฐาน H₂O₂ ความเข้มข้น 0.5 ppm ให้สัญญาณ 0.260 Abs.

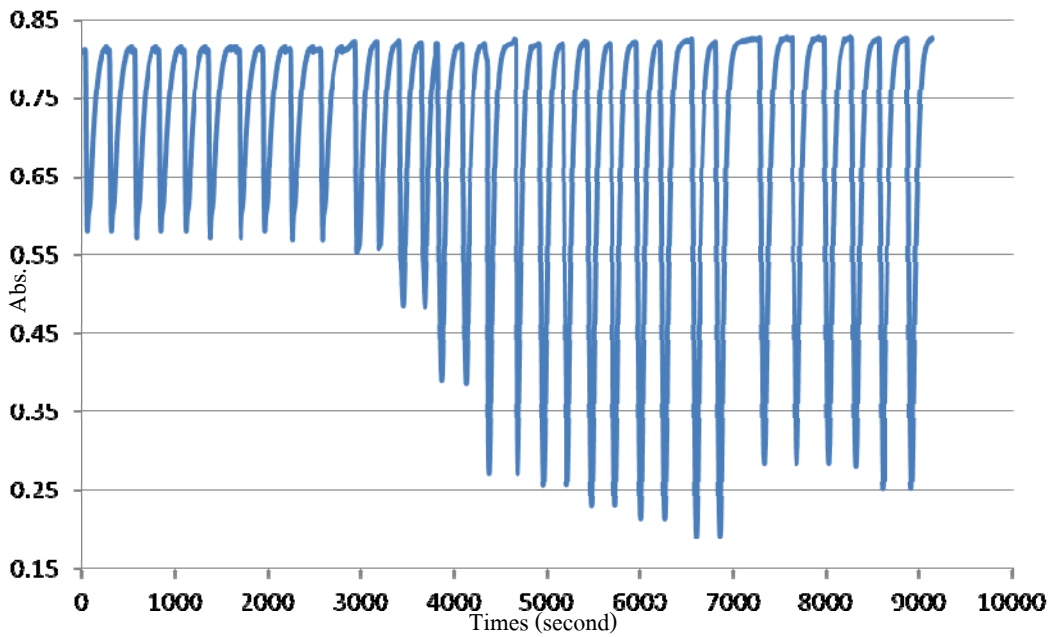
การคำนวณ

สัญญาณ 0.260 Abs ความเข้มข้น = 0.5 ppm

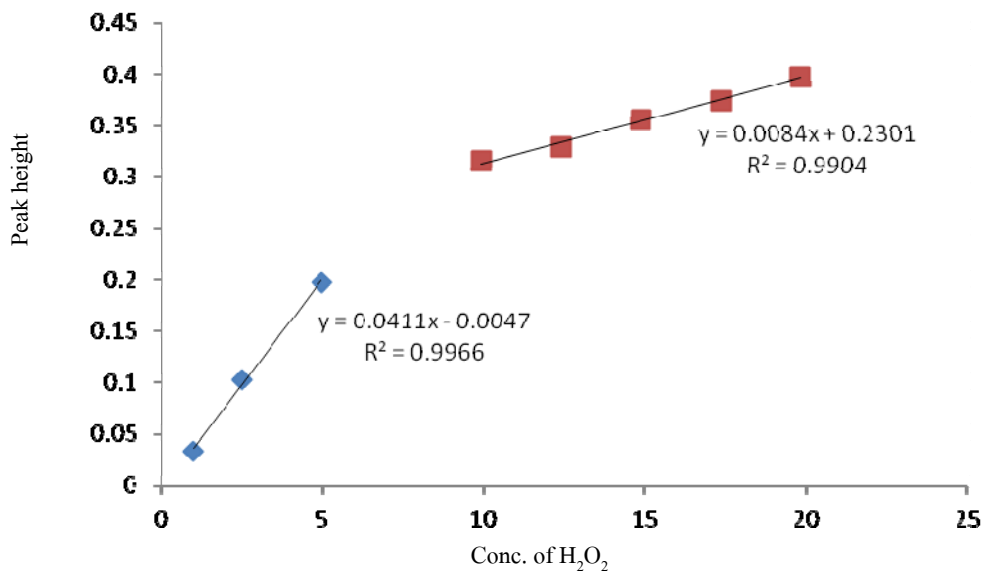
สัญญาณ 0.24 Abs ความเข้มข้น = 0.462 ppm

จากค่าเฉลี่ยการทำซ้ำ 10 ครั้ง LOD = 3(0.463) = 1.38 ppm

LOQ = 10(0.463) = 4.6 ppm



รูปที่ 4.12 แสดงสัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยระบบ FIA ที่พัฒนาขึ้น โดย 10 พีคแรกเป็นเส้นสัญญาณของแบลคค์ 16 พีคต่อมาเป็นสัญญาณของสารละลายมาตรฐาน H_2O_2 ความเข้มข้น 0.5, 1, 2.5, 5, 10, 12.5, 15, 17.5 และ 20 ppm ความเข้มข้นละ 2 พีค และ 6 พีคสุดท้ายเป็นสัญญาณของตัวอย่างยา และผลิตภัณฑ์ซักฟอขาว 2 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ



รูปที่ 4.13 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสูงของสัญญาณการดูดกลืนและความเข้มข้นของ H_2O_2

4.5.3 ความเที่ยงของวิธี

จากทดลองเพื่อหาค่า LOD และ LOQ จึงได้นำสัญญาณของสารละลายแบบลงค์ทั้ง 10 ครั้ง มาคำนวณหาค่า RSD ด้วย ซึ่งได้สัญญาณดังตารางที่ 4.3

จากค่าความเข้มข้นของสารละลายแบบลงค์ที่คำนวณได้ทั้ง 10 ครั้ง นำมาหาค่า SD ได้เท่ากับ 0.0137 และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.463 ppm

$$\begin{aligned} \text{จาก } \quad \quad \quad \%RSD &= (SD/X \text{ bar}) \times 100 \\ &= (0.0137/0.463) \times 100 \\ &= 2.96 \% \end{aligned}$$

4.6 การประยุกต์ใช้วิธีที่พัฒนาขึ้นในการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในตัวอย่างจริง

เมื่อเตรียมสารตัวอย่างเสร็จเรียบร้อยแล้ว ฉีดตัวอย่างเข้าสู่ระบบ FIA ที่พัฒนาขึ้น และบันทึกสัญญาณได้ดังรูปที่ 4.12 และได้ผลดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 แสดงสัญญาณ และความเข้มข้นของ H_2O_2 ที่มีในตัวอย่าง

ตัวอย่าง	Labeled (%w/v)	Peak height	Conc. H_2O_2 (ppm)	Conc. H_2O_2 (%w/v)	Mean (%w/v)	SD (%w/v)
ยาล้างแผล	3.0	0.317	27234.38	2.72	2.74	0.02
		0.318	27468.75	2.75		
น้ำยาซักผ้าขาว	5.0	0.298	42500.00	4.25	4.36	0.15
		0.302	44687.50	4.47		
น้ำยาซักผ้าขาว	7.5	0.342	70006.25	7.00	7.03	0.04
		0.343	70543.75	7.05		

การคำนวณ

ตัวอย่างยาล้างแผล ครั้งที่ 1

$$\text{จากสมการเส้นตรง} \quad \text{peak height} = 0.008 \times [H_2O_2] + 0.230$$

$$\text{จะได้} \quad 0.317 = 0.008 \times [H_2O_2] + 0.230$$

$$[H_2O_2] = 10.89 \text{ ppm}$$

จากขั้นตอนการเตรียม ปิเปตมา 100 μL (1) ปรับปริมาตรเป็น 10000 μL (1)

แล้วเปิด 10000 μL (1) มา 400 μL (2) ปรับปริมาตรเป็น 10000 μL (2)
 คัดย้อนกลับ 10000 μL (2) ไปหา 400 μL (2)
 จาก $M_1V_1 = M_2V_2$
 $M_1(400 \mu\text{L}) = (10.89 \text{ ppm})(10000 \mu\text{L})$
 $M_1 = 272.34 \text{ ppm}$
 แสดงว่าใน 400 μL (2) มี $[\text{H}_2\text{O}_2] = 272.34 \text{ ppm}$
 และใน 10000 μL (1) ก็มี $[\text{H}_2\text{O}_2] = 272.34 \text{ ppm}$
 คัดย้อนกลับ 10000 μL (1) ไปหา 100 μL (1)
 จาก $M_1V_1 = M_2V_2$
 $M_1(100 \mu\text{L}) = (272.34 \text{ ppm})(10000 \mu\text{L})$
 $M_1 = 27234.38 \text{ ppm}$
 แสดงว่าใน 100 μL (1) มี $[\text{H}_2\text{O}_2] = 27234.38 \text{ ppm}$
 และในตัวอย่างที่ไม่ได้เจือจางก็มี $[\text{H}_2\text{O}_2] = 27234.38 \text{ ppm}$

ในตัวอย่าง	1000	mL	มี $[\text{H}_2\text{O}_2]$ อยู่	27234.38×10^{-3}	กรัม
ในตัวอย่าง	100	mL	มี $[\text{H}_2\text{O}_2]$ อยู่	2.72	กรัม

ดังนั้น ในตัวอย่างยาล้างแผลมีไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์อยู่ 2.72 %w/v

หมายเหตุ สำหรับตัวอย่างอื่นๆก็คำนวณในแนวทางเดียวกัน

4.7 การเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์

ผลการวิเคราะห์ที่ได้จากวิธีที่พัฒนาขึ้นจะถูกเปรียบเทียบกับผลการวิเคราะห์จากวิธีการไทเทรตด้วยสารละลายโปแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต

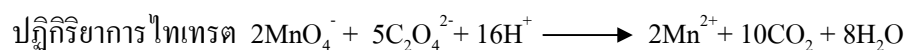
4.7.1 การ standardization ของสารละลายมาตรฐานโปแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต

จากการทดลองการหาความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโปแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต ด้วยสารมาตรฐานปฐุมุมิโซเดียมออกซาลेट ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 แสดงผลการไทเทรต $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ ด้วยสารละลายมาตรฐาน KMnO_4

No.	$\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ (g)	KMnO_4 (ml)	Conc. KMnO_4 (M)	Ave. (M)
1	0.3351	10.10	0.0990	0.0995
2	0.3350	10.00	0.1000	

การคำนวณ



การไทเทรตครั้งที่ 1

$$\begin{aligned} \text{จะได้} \quad & 5 \text{ mol of } \text{MnO}_4^- & = & 2 \text{ mol of } \text{C}_2\text{O}_4^{2-} \\ & (5\text{CV})/1000 & = & 2 (\text{g} / \text{Mw}) \\ & (5 \times \text{C} \times 10.10) / 1000 & = & 2 (0.3351 / 134) \\ & \text{C of } \text{MnO}_4^- & = & 0.0990 \text{ M.} \end{aligned}$$

หมายเหตุ การไทเทรตครั้งที่ 2 จำนวนเหมือนกับการไทเทรตครั้งที่ 1 แล้วหาค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของ MnO_4^- ได้ผลดังตารางที่ 4.5

4.7.2 การหาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่มีในตัวอย่างโดยการไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐานโปแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต

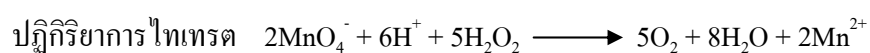
จากการทดลองการหาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่มีในตัวอย่างโดยการไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐานโปแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 แสดงผลการไทเทรตตัวอย่างด้วยสารละลายมาตรฐาน KMnO_4

ใช้ตัวอย่างปริมาตร 10 ml

ตัวอย่าง	Labeled (%w/v)	KMnO_4 (ml)	Conc. H_2O_2 (M)	Conc. H_2O_2 (%w/v)	Mean (%w/v)	SD (%w/v)
ยาล้างแผล	3.0	36.55	0.9092	2.78	2.77	0.02
		36.20	0.9004	2.76		
น้ำยาซักผ้าขาว	5.0	56.05	1.3942	4.27	4.30	0.04
		56.70	1.4104	4.32		
น้ำยาซักผ้าขาว	7.5	92.30	2.2960	7.03	7.04	0.01
		92.50	2.3009	7.05		

การคำนวณ



ตัวอย่างยาล้างแผล

การไทเทรตครั้งที่ 1

$$\begin{aligned} \text{จะได้} \quad 5 \text{ mol of MnO}_4^- &= 2 \text{ mol of H}_2\text{O}_2 \\ (5\text{CV})/1000 &= (2\text{CV})/1000 \\ (5 \times 0.0995 \times 36.55)/1000 &= (2 \times C \times 10)/1000 \\ \text{C of H}_2\text{O}_2 &= 0.9092 \text{ M.} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร} \quad \text{Molar} &= (\%w/v \times 10 \times D) / \text{Mw} \\ \%w/v &= (\text{Molar} \times \text{Mw}) / (10 \times D) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{จะได้} \quad \text{C of H}_2\text{O}_2 (\%w/v) &= (0.9092 \times 34) / (10 \times 1.11) \\ &= 2.78 \%w/v \end{aligned}$$

หมายเหตุ สำหรับตัวอย่างอื่นๆก็คำนวณในแนวทางเดียวกัน

4.7.3 การเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์

เมื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ได้จากวิธีที่พัฒนาขึ้น กับวิธีการไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐาน โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตด้วยวิธี paired - t test พบว่าทั้ง 2 วิธีให้ผลการวิเคราะห์ที่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 ตารางเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ที่ได้จากวิธีที่พัฒนาขึ้นและวิธีการไทเทรต

ตัวอย่าง	Labeled H ₂ O ₂ (%w/v)	Our method (%w/v)	Titration method (%w/v)
ยาล้างแผล	3.0	2.74 ± 0.02	2.77 ± 0.02
น้ำยาซักผ้าขาว	5.0	4.36 ± 0.15	4.30 ± 0.04
น้ำยาซักผ้าขาว	7.5	7.03 ± 0.04	7.04 ± 0.01

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปการผลวิจัย

โครงการวิจัยนี้เป็นการพัฒนาระบบไหลสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยใช้อนุภาคเงินระดับนาโนเป็นตัวติดตาม ซึ่งทำการสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโนขึ้นตามวิธีของ Behad Haghghi และ Somayyeh Bozorgzadeh จากการศึกษาคุณลักษณะของอนุภาคเงินระดับนาโนที่สังเคราะห์ได้พบว่ามีความเฉลี่ยเท่ากับ 10.66 ± 3.96 nm และมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 398 nm การวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์อาศัยปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุภาคเงินระดับนาโน โดยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะออกซิไดซ์อนุภาคเงินระดับนาโน (Ag^0) ให้กลายเป็นไอออนของเงิน (Ag^+) ซึ่งมีผลทำให้สีของสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนเปลี่ยนจากสีเหลืองไปเป็นใสไม่มีสี ระบบไหลที่พัฒนาขึ้นนั้นได้ออกแบบให้สารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนถูกปั๊มเข้ามาในระบบเพื่อเป็นสารละลายตัวพา หลังจากนั้นสารตัวอย่างจะถูกฉีดเข้าไปทำปฏิกิริยากับสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนที่ไหลอยู่ตลอดเวลาในท่อส่วนเกิดปฏิกิริยา และตรวจวัดด้วย spectrophotometer

เพื่อให้มีประสิทธิภาพในวิเคราะห์ที่ดีที่สุดจึงต้องมีการควบคุมพารามิเตอร์ต่างๆให้เหมาะสม ซึ่งผลการศึกษาได้สรุปสถานะการทดลองที่เหมาะสมไว้ในตารางที่ 5.1

ตารางที่ 5.1 แสดงค่าที่เหมาะสมของพารามิเตอร์ต่างๆ

พารามิเตอร์	ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์
ความเข้มข้นของสารละลาย AgNPs	0.06 mM
ความยาวของ mixing coil	200 cm
อัตราการไหล	1 mL/min.
ขนาด sample loop	400 μ L

จากการทดลองพบว่า ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายอนุภาคเงินระดับนาโนที่ 398 nm จะลดลงเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ การหาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ทำได้โดยการสร้างกราฟมาตรฐาน โดยพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความสูงของสัญญาณ กับความ

เข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ จะได้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ในช่วงความเข้มข้น 9.9 – 19.8 ppm สมการเส้นตรง คือ

$$\text{Peak height} = 0.008 [\text{ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์}] + 0.23 \quad (R^2 = 0.990)$$

ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมทำให้ได้คุณลักษณะเด่นของวิธีการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ดังนี้ ค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเท่ากับ 1.38 มิลลิกรัมต่อลิตร ขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณเท่ากับ 4.60 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับความเที่ยงของวิธีประเมินจากค่า RSD ซึ่งมีค่าเท่ากับ 2.96 % และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ซักผ้าขาว 2 ตัวอย่าง และผลิตภัณฑ์ยา 1 ตัวอย่าง ที่ได้จากวิธีที่พัฒนาขึ้นกับวิธีไทเทรต พบว่าผลที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ข้อดีของระบบไหลที่พัฒนาขึ้นนี้ คือ ใช้ปริมาณสารตัวอย่างในการวิเคราะห์ต่อครั้งในปริมาณที่น้อย (400 ไมโครลิตร) เป็นวิธีที่ง่าย ระบบการทำงานทำได้โดยอัตโนมัติและมีความรวดเร็วในการวิเคราะห์ (18 ตัวอย่างต่อหนึ่งชั่วโมง) มีความแม่นยำ (precision) สูง ราคาถูกเนื่องจากสามารถสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโนได้เอง ซึ่งมีต้นทุนถูกกว่าการสั่งซื้ออนุภาคเงินระดับนาโนสำเร็จรูป ซึ่งอาจเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะนำวิธีที่ได้พัฒนาขึ้นไปประยุกต์ใช้วิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ยา และผลิตภัณฑ์ซักผ้าขาว

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. การเตรียมสารละลายมาตรฐานไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สำหรับสร้างกราฟมาตรฐานควรเตรียมใหม่ทุกครั้ง ไม่ควรเตรียมสารละลายมาตรฐานไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ stock เก็บไว้ เนื่องจากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีการสลายตัวกลายเป็นน้ำและออกซิเจนตลอดเวลา และอัตราการสลายตัวจะเพิ่มขึ้นเมื่อมีแสงหรือความร้อนเป็นตัวกระตุ้น
2. การสร้างกราฟมาตรฐานควรทำใหม่ทุกวัน และทำในวันเดียวกันกับการวิเคราะห์ตัวอย่าง
3. ควรทำ standardization ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (stock 30 %w/v) สัปดาห์ละครั้ง โดยการไทเทรตด้วยโพแทสเซียมเปอร์แมงกานेट
4. หลังจากทำการทดลองทุกครั้ง จะต้องล้างท่อและ injection valve ให้สะอาดโดยการ flow ด้วยน้ำกลั่น และทำให้แห้งโดยการ flow ด้วยอากาศ เพื่อป้องกันสนิมที่จะเกิดกับ injection valve
5. ทำการตรวจสอบวิธีที่พัฒนาขึ้นกับวิธีไทเทรต เพื่อประเมินความถูกต้องของวิธี

เอกสารอ้างอิง

- [1] You Sang, Li Zhang, Yuan Fang Li , Li Qiang Chen, Jia Li Xu, Cheng Zhi Huang. **“A visual detection of hydrogen peroxide on the basis of Fenton reaction with gold nanoparticles”**. *Analytica Chimica Acta* 659 (2010) 224–228.
- [2] Suraj Kumar Tripathy, Ju Yeon Woo, and Chang-Soo Han. **“Highly Selective Colorimetric Detection of Hydrochloric Acid Using Unlabeled Gold Nanoparticles and an Oxidizing Agent”**. *Anal. Chem.* 2011, 83, 9206–9212
- [3] Hong Ping, Minwei Zhang, Hongkun Li , Shugui Li , Quansi Chen , Chunyan Sun , Tiehua Zhang. **“Visual detection of melamine in raw milk by label-free silver nanoparticles”**. *Food control* 23 (2012) 191-197.
- [4] Wiphawee Leesutthiphonchai, Wijitar Dungchai, Weena Siangproh, Nattaya Ngamrojnavanich, Orawon Chailapakul. **“Selective determination of homocysteine levels in human plasma using a silvernanoparticle-baased colorimetric assay”**. *Talanta* 85 (2011) 870-876.
- [5] Sadanand Pandey, Gopal K. Goswami, Karuna K. Nanda. **“Green synthesis of biopolymer–silver nanoparticle nanocomposite: An optical sensor for ammonia detection”**. *International Journal of Biological Macromolecules* 51 (2012) 583– 589.
- [6] Zeid Abdullah Alothman , Nausheen Bukhari , Sajjad Haider ,Saikh Mohammad Wabaidur , Abdulrahman A. Alwarthan. **“Spectrofluorimetric determination of fexofenadine hydrochloride in pharmaceutical preparation using silver nanoparticles”**. *Arabian Journal of Chemistry* (2010) 3, 251–255.
- [7] S. Gunduz , S. Akman , A. Baysal , M. Kahraman. **“The use of silver nanoparticles as an effective modifier for the determination of arsenic and antimony by electrothermal atomic absorption spectrometry”**. *Spectrochimica Acta Part B* 65 (2010) 297–300.

- [8] Hui-Chao Hu, Hui-Jun Jin , Xin-Sheng Chai. **“Rapid determination of hydrogen peroxide in pulp bleaching effluents by headspace gas chromatography”**. Journal of Chromatography A, 1235 (2012) 182– 184.
- [9] Hongfei Yue, Xin Bu, Ming-Hsing Huang, Joel Young, Thomas Raglione **“Quantitative determination of trace levels of hydrogen peroxide in crospovidone and a pharmaceutical product using high performance liquid chromatography with coulometric detection”**. International Journal of Pharmaceutics 375 (2009) 33–40 .
- [10] Spencer M. Steinberg. **“High-performance liquid chromatography method for determination of hydrogen peroxide in aqueous solution and application to simulated Martian soil and related materials”**. Environ Monit Assess(2012).
- [11] E. I. Morosanova, M. V. Belyakov, and Yu. A. Zolotov. **“Silica–Titania Xerogels: Solid_Phase Spectrophotometric and Field Test Determination of Hydrogen Peroxide in Disinfectants”**. Journal of Analytical Chemistry, 2012, Vol. 67, No. 2, pp. 151–155.
- [12] P. Nagaraja J. S. Prakash S. C. Asha B. L. Bhaskara S. Anil Kumar **“Dibenzazepin hydrochloride as a new spectrophotometric reagent for determination of hydrogen peroxide in plant extracts”**. Environ Monit Assess (2012) 184:5983–5988.
- [13] Xiaoyan Yang , Yingshu Guo, Zhenhua Mei. **“Chemiluminescent determination of H₂O₂ using 4-(1,2,4-triazol-1-yl)phenol as an enhancer based on the immobilization of horseradish peroxidase onto magnetic beads”** Analytical Biochemistry 393 (2009) 56–61.
- [14] Baiqing Yuan, Hongwei Du, Tianyan You. **“A novel tris(2,2'-bipyridine)ruthenium(II)/ tripropylamine cathodic electrochemiluminescence in acetonitrile for the indirect determination of hydrogen peroxide”**. Talanta 79 (2009) 730–733.
- [15] Ting Wen, Fei Qu, Nian Bing Li, Hong Qun Luo **“Polyethyleneimine-capped silver nanoclusters as a fluorescence probe for sensitive detection of hydrogen peroxide and glucose”** Analytica Chimica Acta 749 (2012) 56– 62.

- [16] Xiangyi Huang, Tao Lan, Bocheng Zhang and Jicun Ren .“ **Gold nanoparticle–enzyme conjugates based FRET for highly sensitive determination of hydrogen peroxide, glucose and uric acid using tyramide reaction**”. *Analyst*, 2012, 137, 3659.
- [17] Estefania Ortega,Susana de Marcos,Javier Galban “**Fluorometric enzymatic autoindicating biosensor for H₂O₂ determination based on modified catalase**”. *Biosensors and Bioelectronics*
- [18] Zhiliang Jiang , Li Kun , Huixiang Ouyang Aihui Liang , Hesheng Jiang. “**A Simple and Sensitive Fluorescence Quenching Method for the Determination of H₂O₂ Using Rhodamine B and Fe₃O₄ Nanocatalyst**”. *J Fluoresc* (2011) 21:2015–2020
- [19] Yuan Gao, Guannan Wang, Hui Huang, Junjie Hu, Syed Mazhar Shah, Xingguang Su. “**Fluorometric method for the determination of hydrogen peroxide and glucose with Fe₃O₄ as catalyst**”. *Talanta* 85 (2011) 1075– 1080.
- [20] Wei Luo, Yu-Sang Li , Jing Yuan, Lihua Zhu, Zhengdan Liu, Heqing Tang, Shusheng Liuc. “**Ultrasensitive fluorometric determination of hydrogen peroxide and glucose by using multiferroic BiFeO₃ nanoparticles as a catalyst**”. *Talanta* 81 (2010) 901–907
- [21] Ryosuke Nakahara , Satomi Kashitani Kumi Hayakawa , Yuuki Kitani , Takako Yamaguchi,Yoshikazu Fujita. “**Fluorophotometric Determination of Hydrogen Peroxide with Fluorescein in the Presence of Cobalt (II) and Reaction Against Other Reactive Oxygen Species**”. *J Fluoresc* (2009) 19:769–775
- [22] M.E. Abbas , Wei Luo , Lihua Zhu , Jing Zou , Heqing Tang .“**Fluorometric determination of hydrogen peroxide in milk by using a Fenton reaction system**”. *Food Chemistry* 120 (2010) 327–331.
- [23] Halimeh rajabzade, Parandis Daneshgar, Elham Tazikeh, and Ramin Zafar Mehrabian “**Functionalized Carbon Nanotubes with Gold Nanoparticles to Fabricate a Sensor for Hydrogen Peroxide Determination**”. *E-Journal of Chemistry* 2012, 9(4), 2540-2549.
- [24] Afsaneh Safavi, Norouz Maleki, Elaheh Farjami “**Electrodeposited Silver Nanoparticles on Carbon Ionic Liquid Electrode for Electrocatalytic Sensing of Hydrogen Peroxide**”. *Electroanalysis* 2009, 21, No. 13, 1533 – 1538.

- [25] Bin Xu, Min-Ling Ye, Yu-Xiang Yu, Wei-De Zhang “**A highly sensitive hydrogen peroxide amperometric sensor based on MnO₂-modified vertically aligned multiwalled carbon nanotubes**”. *Analytica Chimica Acta* 674 (2010) 20–26.
- [26] Bing Zhang, Yuling Cui, Huafeng Chen, Bingqian Liu, Guonan Chen, Dianping Tang. “**A New Electrochemical Biosensor for Determination of Hydrogen Peroxide in Food Based on Well-Dispersive Gold Nanoparticles on Graphene Oxide**”. *Electroanalysis* 2011, 23, No. 8, 1821 – 1829.
- [27] Chia-Yu Lina, Yi-Hsuan Lai a,b, A. Balamurugana, R. Vittal a, Chii-Wann Linb,c, Kuo-Chuan Ho “**Electrode modified with a composite film of ZnO nanorods and Ag nanoparticles as a sensor for hydrogen peroxide**”. *Talanta* 82 (2010) 340–347.
- [28] Feyza S. Yardımcı, Mehmet senel , Abdülhadi Baykal. “**Amperometric hydrogen peroxide biosensor based on cobalt ferrite–chitosan nanocomposite**”. *Materials Science and Engineering C* 32 (2012) 269–275.
- [29] H. Razmi, R. Mohammad-Rezaei, H. Heidari “**Self-Assembled Prussian Blue Nanoparticles Based Electrochemical Sensor for High Sensitive Determination of H₂O₂ in Acidic Media**”. *Electroanalysis* 2009, 21, No. 21, 2355 – 2362.
- [30] Haesang Jeong, Songmi Kim, Heejin Seol, Jung-Min You, Eun Seon Jeong, Seul Ki Kim, Kyung-Sik Seo, and Seungwon Jeon “**Determination of Hydrogen Peroxide on Modified Glassy Carbon Electrode by Polytetrakis(2-aminophenyl)porphyrin Nanowire**”. *Bull. Korean Chem. Soc.* 2009.
- [31] Huaan Zhong , Ruo Yuan ,Yaqin Chai , Wenjuan Li , Yu Zhang , Chengyan Wang. “**Amperometric biosensor for hydrogen peroxide based on horseradish peroxidase onto gold nanowires and TiO₂ nanoparticles**”. *Bioprocess Biosyst Eng* (2011) 34:923–930.
- [32] Jagriti Narang, Nidhi Chauhan and C. S. Pundir “**A non-enzymatic sensor for hydrogen peroxide based on polyaniline, multiwalled carbon nanotubes and gold nanoparticles modified Au electrode**” . *Analyst*, 2011, 136, 4460.

- [33] Jianfeng Ping , Shiping Ru , Kai Fan , Jian Wu ,Yibin Ying. **“Copper oxide nanoparticles and ionic liquid modified carbon electrode for the non-enzymatic electrochemical sensing of hydrogen peroxide”**. *Microchim Acta* (2010) 171:117–123.
- [34] Jianfeng Ping, Jian Wu, Kai Fan, Yibin Ying. **“An amperometric sensor based on Prussian blue and poly(o-phenylenediamine) modified glassy carbon electrode for the determination of hydrogen peroxide in beverages”**. *Food Chemistry* 126 (2011) 2005–2009.
- [34] Jianfeng Ping, Jian Wu, Kai Fan, Yibin Ying. **“An amperometric sensor based on Prussian blue and poly(o-phenylenediamine) modified glassy carbon electrode for the determination of hydrogen peroxide in beverages”**. *Food Chemistry* 126 (2011) 2005–2009.
- [35] Zhenzhen Chen, Qingling Li, Xu Wang, Zhiyuan Wang, Ruirui Zhang, Miao Yin, Lingling Yin, Kehua Xu, and Bo Tang. **“Potent Method for the Simultaneous Determination of Glutathione and Hydrogen Peroxide in Mitochondrial Compartments of Apoptotic Cells with Microchip Electrophoresis-Laser Induced Fluorescence”**. *Anal. Chem.* 2010, 82, 2006–2012.
- [36] Makoto Kurihara, Miyuki Muramatsu, Mari Yamada, Naoya Kitamura. **“Flow injection determination of hydrogen peroxide using catalytic effect of cobalt(II) ion on a dye formation reaction”**. *Talanta* 96 (2012) 180– 184.
- [37] Hui Chen,^a Ling Lin,^b Zhen Lin,^a Chao Lu,^b Guangsheng Guob and Jin-Ming Lin. **“Flow-injection analysis of hydrogen peroxide based on carbon nanospheres catalyzed hydrogen carbonate–hydrogen peroxide chemiluminescent reaction”**. *Analyst*, 2011, 136, 1957.
- [38] Zhihua Wang, Fang Liu, Xu Teng, Changxin Zhao and Chao Lu. **“Detection of hydrogen peroxide in rainwater based on Mg-Al-carbonate layered double hydroxides-catalyzed luminol chemiluminescence”**. *Analyst*, 2011, 136, 4986.
- [39] Behad Haghghi , Somayyeh Bozorgzadeh. **“Flow injection chemiluminescence determination of isoniazid using luminal and silver nanoparticles”**. *Microchemical Journal* 95 (2010) 192 – 197.
- [40] ASTM D6363 – 98 (2009)

ภาคผนวก

ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัยชิ้นนี้ ได้รับการเผยแพร่ที่งานประชุม Collaborative Conference on Material Research 2013 (CC3DMR 2013) ระหว่างวันที่ 24-28 มิถุนายน 2556 ณ ประเทศเกาหลีเหนือ



CC3DMR 2013 PROGRAM AND ABSTRACT



Collaborative Conference on 3D & Materials Research

June 24 – June 28, 2013

Ramada Plaza Jeju Hotel

Jeju, South Korea



Poster Session, 24-June, 18:00 - 19:00PM

Interaction of Silver Nanoparticles and Hydrogen Peroxide: Mechanisms and Application

Saowapak Teerasong^{1,2*}, Thitaporn Sonsa-ard², Chavin Vimolkajana², Nathawut Choengchan^{1,2}, Apiwat Chompoosor^{3,4}

¹ Flow Innovation-Research for Science and Technology Laboratories (FIRST Labs.), Thailand

² Applied Analytical Research Unit, Department of Chemistry, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok Thailand

³ Materials Science and Nanotechnology Program and Department of Physics, Faculty of Science, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand

⁴ Integrated Nanotechnology Research Center (INRC), Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand

*Email: ktsaowap@kmitl.ac.th

Abstract

Hydrogen peroxide (H_2O_2) can induce the degradation of silver nanoparticles (AgNPs). In this work, we found that the mechanisms of degradation are different depending on the concentration of AgNPs. When introducing the H_2O_2 into 0.06 mM of AgNPs, the AgNPs color was changed from yellow to transparent (Figure 1(a)). While adding the H_2O_2 into the higher concentration of AgNPs (0.24 mM), the blue color was attained (Figure 1(b)). The mechanisms of degradation were examined by transmission electron microscopy (TEM), X-ray Diffraction (XRD) and UV-vis spectrophotometer. Furthermore, we developed a flow-through system with colorimetric detection for determination of H_2O_2 . In the system, the H_2O_2 was injected into 0.06 mM of AgNPs carrier (Figure 2). The change of color was monitored by a colorimeter. Under the optimal condition, a linear calibration was obtained in range of 5-15 mg/L of H_2O_2 . The system offers high throughputs of analysis (20 samples/h). This method is successfully applied to determination of H_2O_2 in bleaching products.

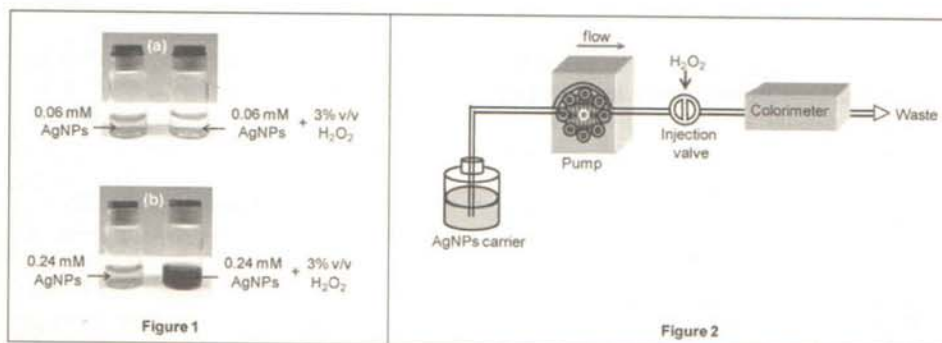


Figure 1 The degradation of AgNPs by H_2O_2

Figure 2 A flow-through system.

References

1. D. He, A.M. Jones, S. Garg, A. N. Pham and T. D. Waite, *The Journal of Physical Chemistry* **115**, 5461 (2011).
2. E. Filippo, A. Serra and D. Manno, *Sensors and Actuators B: Chemical* **138**, 625 (2009).

ข้อมูลประวัติคณะผู้วิจัย (ปรับได้ตามความเหมาะสม)

ประวัติส่วนตัว

ชื่อ-สกุล: ดร.เสาวภาคย์ ชีราทรง

ตำแหน่งปัจจุบัน: อาจารย์ประจำสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ประวัติการศึกษา

ชื่อปริญญา	สาขา	สถาบันที่จบ	ปีที่จบ
Ph. D	Science and Technology Education	มหาวิทยาลัยมหิดล	2553
วท. บ.	เคมี	มหาวิทยาลัยขอนแก่น	2545

สาขาวิจัยที่มีความชำนาญพิเศษ: Flow-based techniques, Food and drug analysis

ทุนการศึกษาและทุนวิจัยที่เคยได้รับ

ปี พ.ศ.	ทุนการศึกษาและทุนวิจัย	สถาบันที่ให้
2556	ทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2556 คณะวิทยาศาสตร์ สจล.	คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
2555	ทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2555 คณะวิทยาศาสตร์ สจล.	คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
2555	ทุนพัฒนานักวิจัยใหม่ กองทุนวิจัยสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
2555	ทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่	สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

ผลงานวิจัย/งานสร้างสรรค์**ผลงานวิจัย/งานสร้างสรรค์ที่ตีพิมพ์เผยแพร่ (ระดับชาติและนานาชาติ)**

1. **Teerasong S**, Sonsa-ard T, Vimolkanjana C, Choengchan N, Chompoosor A, and Nacapricha D. Colorimetric Sensor Using Silver Nanoparticles for Determination of Hydrogen Peroxide Based on a Flow Injection System. *Journal of Nanoelectronics and Optoelectronics*, in press.
2. Mantim T, Saetear P, **Teerasong S**, Chan-Eam S, Sreenonchai K, Amornthammarong N, Ratanawimarnwong N, Wilairat P, Meesiri W, Uraisin K, and Nacapricha D. Reagent-free analytical flow methods for the soft drink industry: Efforts for environmentally friendly chemical analysis. *Pure and Applied Chemistry* 2012; 84: 2015-2025.
3. Chan-Eam S, **Teerasong S**, Damwan K, Nacapricha D, and Chaisuksant R. Sequential injection analysis with electrochemical detection as a tool for economic and rapid evaluation of total antioxidant capacity. *Talanta* 2011; 84: 1350-1354.

การเสนอผลงานวิชาการ

1. **Teerasong S**, Sonsa-ard T, Vimolkanjana C, Choengchan N, and Chompoosor A. Interaction of Silver Nanoparticles and Hydrogen Peroxide: Mechanisms and Application. Collaborative Conference on Material Research 2013 (CC3DMR 2013), 24-28 June 2013, Jeju islands, South Korea.
2. **Teerasong S**, Wattanasin P, Sukieam M, and Nacapricha, D. A new method for measurement of the partition coefficient of drugs. The 38th Congress on Science and Technology of Thailand (STT38), 17-19 October 2012, Chaing Mai, Thailand.